

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Вятский государственный университет»  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт биологии Коми научного центра  
Уральского отделения Российской академии наук

**МИКРООРГАНИЗМЫ КАК АГЕНТЫ БИОМОНИТОРИНГА  
И БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

Киров  
2018

УДК 504.064  
ББК 20.1(2Р-4Ки)  
М 25



*Печатается по рекомендации Научного совета  
Вятского государственного университета*

Рецензенты:

**Т. К. Шешегова**, доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией иммунитета и защиты растений Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого;

**И. П. Погорельский**, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии Вятского государственного университета

Авторы: *Т. Я. Ашихмина, Л. И. Домрачева, Л. В. Кондакова, И. Г. Широких, А. А. Широких, А. И. Фокина, С. Г. Скугорева, Е. А. Горностаева, Е. С. Соловьёва, Е. В. Товстик, С. Ю. Огородникова, Ю. Н. Зыкова*

М 25 Микроорганизмы как агенты биомониторинга и биоремедиации загрязненных почв / Т. Я. Ашихмина [и др.]; под общ. ред. Т. Я. Ашихминой, Л. И. Домрачевой. – Киров : Науч. изд-во ВятГУ, 2018. – 254 с.

ISBN 978-5-98228-170-8

В монографии представлены разработанные сотрудниками ВятГУ, лабораториями биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ, а также Вятской сельскохозяйственной академии оригинальные методики биоиндикации, биотестирования, биоремедиации. Особое внимание уделено растительно-микробным взаимодействиям в загрязненных почвах, сорбционная, детоксикационная, деструкционная активность которых позволяет в перспективе широко использовать подобные ассоциации в биоремедиационных мероприятиях. Представлены результаты многолетних исследований по изучению состояния природных объектов, которые получены при апробации информативных экспресс-методов биологического анализа. Описаны приемы использования биологических объектов в ремедиации техногенных территорий.

Монография предназначена для студентов, аспирантов и специалистов в области микробиологии, экологии и охраны окружающей среды.

Ил. 60. Табл. 76. Библиогр. 396.

Издание осуществлено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту № 18-14-00011Д, не подлежит продаже.

УДК 504.064  
ББК 20.1(2Р-4Ки)

ISBN 978-5-98228-170-8

© Вятский государственный университет  
(ВятГУ), 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> (Л. И. Домрачева, Т. Я. Ашихмина).....	5
<b>ГЛАВА 1. МИКРООРГАНИЗМЫ В БИОИНДИКАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ</b> .....	7
1.1. Общие принципы использования микроорганизмов в биомониторинге (Т. Я. Ашихмина, Л. И. Домрачева, Л. В. Кондакова).....	8
1.1.1. Альгоиндикация в биомониторинге.....	10
1.1.2. Групповой анализ фототрофных сообществ «цветения» почвы.....	12
1.1.3. Характеристика альго-микологических комплексов .....	25
1.1.4. Использование микромицетов в биоиндикации .....	30
1.1.5. Сукцессионный анализ.....	41
1.1.6. Выявление специфических микробных комплексов.....	48
1.2. Актиномицеты в оценке экологического состояния наземных экосистем (И. Г. Широких, Е. В. Товстик, Е. С. Соловьёва) .....	49
1.3. Микромицеты в диагностике состояния почв в агроэкосистемах (И. Г. Широких, А. А. Широких).....	70
<b>ГЛАВА 2. ЦИАНОБАКТЕРИИ КАК ТЕСТ-ОРГАНИЗМЫ</b> (Л. И. Домрачева, А. И. Фокина, Е. А. Горностаева, Ю. Н. Зыкова, С. Ю. Огородникова, С. Г. Скугорева, Л. В. Кондакова).....	91
2.1. Цианобактерии как тест-организмы при определении дегидрогеназной активности тетразольно-топографическим методом.....	96
2.2. Исследование степени токсичности различных искусственно синтезированных соединений .....	102
2.3. Использование цианобактерий для тестирования почвенных вытяжек.....	106
2.4. Применение тетразольно-топографического метода и метода количественного определения содержания формаза при биотестировании с использованием цианобактерий.....	110
2.5. Пути совершенствования методов цианобактериального биотестирования при исследовании токсичности различных соединений.....	112
2.6. Использование методики биотестирования в комплексном геоэкологическом мониторинге антропогенно трансформированных территорий .....	115
2.7. Использование интенсивности биофлуоресценции цианобактерий при биотестировании .....	123
2.8. Перекисное окисление липидов, активность каталазы и содержание хлорофилла как маркерные признаки при использовании цианобактерий в процессе биотестирования.....	127

<b>ГЛАВА 3. БИОСОРБЦИЯ И БИОДЕГРАДАЦИЯ ПОЛЛЮТАНТОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ</b> (Т. Я. Ашихмина, А. И. Фокина, Ю. Н. Зыкова, Е. А. Горностаева, Л. И. Домрачева).....	133
3.1. Механизмы биосорбции тяжелых металлов.....	133
3.2. Микроорганизмы – деструкторы органических соединений .....	137
3.3. Влияние различных факторов на процессы сорбции и биодеградация поллютантов.....	141
3.4. Роль микроорганизмов в детоксикации загрязняющих веществ .....	158
3.5. Прикладное значение процессов сорбции и биодеградация .....	161
 <b>ГЛАВА 4. МИКРООРГАНИЗМЫ И МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНЫЕ АССОЦИИ В БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ</b> (Л. И. Домрачева, Е. А. Горностаева, Т. Я. Ашихмина, И. Г. Широких).....	173
4.1. Использование аборигенной микрофлоры в биоремедиации .....	175
4.2. Использование интродуцируемых штаммов микроорганизмов и микробных консорциумов в биоремедиации .....	177
4.3. Биоремедиационный потенциал актиномицетов в ассоциациях с растениями.....	193
4.4. Использование растительно-ризомикробных комплексов в биоремедиации.....	205
4.4.1. Роль цианобактериальной обработки семян в повышении урожайности сельскохозяйственных культур.....	213
4.4.2. Влияние ионов меди(II) на накопление антоциановых пигментов высшими растениями.....	216
4.4.3. Роль предпосевной цианобактериальной обработки семян высших растений в сорбции ионов меди(II) из загрязненной почвы .....	219
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> (Т. Я. Ашихмина, Л. И. Домрачева) .....	223
<b>БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК</b> .....	226

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема загрязнения окружающей среды остается актуальной и в настоящее время, несмотря на комплекс мероприятий, которые постоянно осуществляются как на территории нашей страны, так и во всем мире. К поллютантам природного происхождения постоянно присоединяются все новые и новые ксенобиотики, искусственно синтезированные человеком, для многих из которых не установлены ПДК. Загрязнение почвы, воды, воздуха и, соответственно, продуктов питания негативно сказывается на жизни и здоровье людей.

Данная проблема имеет много решений. Одним из путей оздоровления окружающей среды является использование биотехнологического потенциала микроорганизмов. Не случайно в последние годы в научных исследованиях чрезвычайно вырос интерес к почвенным микроорганизмам различной систематической принадлежности как к объектам, которые можно использовать в целях биомониторинга и биоремедиации окружающей среды. Данные возможности обусловлены рядом физиолого-биохимических и экологических особенностей микроорганизмов. В частности, в любом типе почвы численность их популяций измеряется миллионами-миллиардами клеток в 1 г. Высокая скорость размножения, быстрота ответных реакций на стрессовые воздействия позволяют в течение короткого времени фиксировать уровень потенциальной опасности тех или иных соединений, попадающих в окружающую среду.

Исследования почвенной микробиоты чрезвычайно важны в рамках создания системы комплексного биомониторинга конкретных регионов, особенно тех, на территории которых находятся экологически опасные объекты.

Важнейшим стимулом для изучения взаимодействия микробных комплексов с загрязняющими факторами окружающей среды является их практическая ценность. Область применения полученных результатов – биодиагностика состояния различных природных и антропогенно преобразованных экосистем, которая может предшествовать физико-химическим, более дорогостоящим методам анализа.

Существенный интерес представляют растительно-микробные взаимодействия в загрязненных почвах. Сорбционная, детоксикационная, деструкционная активность аборигенных и интродуцированных штаммов микроорганизмов позволяет в перспективе широко использовать подобные ассоциации в биоремедиационных мероприятиях.

Основные результаты, представленные в данной монографии, разработанные оригинальные методики биоиндикации, биотестирования и биоремедиации выполнены сотрудниками ВятГУ, лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ [29, 56, 125], Вятской государственной сельскохозяйственной академии, а также Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого.

## ГЛАВА 1. МИКРООРГАНИЗМЫ В БИОИНДИКАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Загрязнение окружающей среды неизбежно приводит к необходимости оценивать возможные последствия данного явления и разрабатывать мероприятия по его устранению. Поток поллютантов, попадающих в почву, становится причиной деформации микробоценозов при однократном воздействии и их эволюции при пролонгированном поступлении токсикантов. Характер изменений в составе и функционировании микробоценозов фиксируется гораздо быстрее, чем в фитоценозах, благодаря высокой скорости размножения большинства представителей микробиоты. Поэтому идея использования микроорганизмов в биомониторинге чрезвычайно привлекательна для экологов, бактериологов, альгологов, микологов, протозоологов.

Система биоиндикации и биотестирования включает также использование определенных интегральных функций почвы: интенсивность почвенного «дыхания», активность ферментов, морфофизиологические показатели высших растений.

В последние годы при оценке состояния окружающей среды и нормировании ее качества становится доминирующим экологический подход. В частности, предлагается оценивать степень негативного воздействия химического загрязнения на основе «эмерджентного» подхода по степени нарушения экологических и хозяйственных функций, выполняемых почвой в природной экосистеме, агроэкосистеме или урбосистеме [119]. В качестве критерия нарушения экофункций предлагается использовать интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы, определенный на основе набора наиболее информативных биологических показателей, первыми реагирующими на антропогенное воздействие. В серии опытов было показано, что наиболее информативный срок экспозиции 30 суток. Через 30 суток после загрязнения из всех вариантов опыта отбирают образцы почвы. В каждом образце почвы определяют шесть биологических показателей: общую численность бактерий, обилие бактерий рода *Azotobacter*, активность каталазы и дегидрогеназы, целлюлозолитическую активность, длину корней редиса (растение, выбираемое как тест-организм). Выбор биологических показателей определяется следующими причинами. Общая численность бактерий характеризует состояние редуцентов в экосистеме. Бактерии р. *Azotobacter* традиционно используются как индикатор химического загрязнения почвы.

Активность каталазы и дегидрогеназы отражает интенсивность минерализационных процессов в почве. Длина корней редиса характеризует благоприятность почвы для растений. При расчете ИПБС почвы значение каждого из шести показателей в незагрязненной почве принимают за 100% и по отношению к нему выражают в процентах значения в вариантах с загрязненной почвой.

Ранее установлено, что если значения ИПБС уменьшаются менее чем на 5%, то почва выполняет свои экологические функции нормально, при снижении значений ИПБС на 5–10% происходит нарушение информационных экофункций, на 10–25% – биохимических, физико-химических, химических и целостных, более чем на 25% – физических.

Почва выполняет свои физиологические функции полноценно, пока не произошло снижение значений ИПБС. При его снижении в той или иной степени нарушаются те или иные экологические функции почвы.

### **1.1. Общие принципы использования микроорганизмов в биомониторинге**

Применение микроорганизмов в биомониторинге окружающей среды имеет сравнительно давнюю историю. Быстрота ответных реакций микробных сообществ на действие поллютантов позволяет оперативно оценить степень их токсичности. Не случайно поэтому различные группы про- и эукариотных микроорганизмов рассматриваются как тест-организмы и организмы-индикаторы на загрязнение воды и почвы. Значительное количество исследований по биомониторингу состояния почвы особо опасных экологических объектов в Кировской области было выполнено в лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ [29, 56, 125]. В процессе этих исследований сотрудниками лаборатории разработан ряд авторских методик, позволяющих получать оперативную информацию об уровне загрязнения исследуемой почвы различными поллютантами. Мониторинг изменений в микробном комплексе почвы служит основой ранней диагностики и возможного прогнозирования последствий загрязнения и деградации почвы. Для этого в качестве организмов-индикаторов и тест-организмов используют прокариотных и эукариотных представителей почвенной микрофлоры: бактерии-гетеротрофы, мицелиальные бактерии (актиномицеты), фотосин-

тезирующие бактерии (цианобактерии), водоросли и микромицеты. В целях биомониторинга предлагается фиксировать определенные показатели состояния микробных систем и отдельных микроорганизмов. Важным моментом для выбора индикаторных видов микроорганизмов должна быть оценка функциональной значимости этих микроорганизмов для почвенных экосистем (знание их роли в процессах трансформации веществ, образовании фитотоксинов, их опасность как патогенов или фитопатогенов и т. д.). При этом возможность использования отдельных видов для индикации загрязнения (даже если они широко распространены в разных типах почв) имеет определенные ограничения, связанные с неизбежным влиянием на популяционную плотность индикаторных видов других экологических факторов – кислотности почвы, температуры, влажности, содержания органического вещества и других [135].

Подобные ограничения практически снимаются при изучении микробных комплексов в фоновых и загрязненных почвах.

В частности, предлагается достаточно стройная система биоиндикации, которая базируется на следующих параметрах [15, 122, 123, 125]:

1. Альгоиндикация. Основана на выявлении и сравнении видового состава водорослей и цианобактерий (ЦБ) фоновых и загрязненных территорий. Критерием степени нарушения почвенных ценозов является уровень снижения их видового разнообразия [15, 122, 123, 125].

2. Групповой анализ фототрофных сообществ «цветения» почвы. Основан на выявлении группового состава водорослей и ЦБ, формирующих пленки «цветения». Критерием неблагополучия биологического состояния почвы является монофикация сообществ с выпадением отдельных групп фототрофных микроорганизмов [123, 125].

3. Характеристика альго-микологических комплексов. Основана на определении количественных показателей: численность и биомасса клеток водорослей, длина мицелия и биомасса микромицетов. Критерием нарастающего биологического кризиса почвы является увеличение в структуре альго-грибной биомассы доли грибов [123, 125].

4. Использование микромицетов в биоиндикации. Основано на оценке сравнительного вклада в структуру популяций грибов с окрашенным (меланинсодержащим) и бесцветным мицелием. Преоб-

ладание в структуре популяций форм с темноокрашенным мицелием является одним из показателей химического загрязнения почвы [123, 125].

5. Сукцессионный анализ. Основан на изучении динамики развития наземных фототрофных микробных сообществ в моделируемых условиях. Характер и уровень развития различных комплексов микроорганизмов позволяет оценить силу воздействия поллютантов при их различной концентрации [123, 125].

6. Выявление специфических микробных комплексов. Индикация неблагоприятного состояния почвы по развитию в ней комплексов организмов, усиливающих негативное воздействие химического загрязнения.

Данные микробиологические параметры биоиндикации раскрываются в разделах 1.1.1–1.1.6.

### 1.1.1. Альгоиндикация в биомониторинге

При биоиндикации состояния систем любого уровня целесообразно использовать следующие группы организмов: чувствительные, резистентные и накопители поллютантов. Нами в серии полевых и модельных опытов было установлено, что в различных типах фоновых (незагрязненных) почв сообщества фототрофных микроорганизмов (водорослей и ЦБ) обладают определенным уровнем видового разнообразия. Прессинг антропогенных факторов на подобные сообщества проявляется в такой негативной тенденции, как уменьшение видового разнообразия микрофототрофов в загрязненных и нарушенных местообитаниях [73]. Универсальность выдвинутого положения подтверждается результатами определения видового состава альгофлоры в почвах, загрязненных как агрохимикатами (табл. 1–3), так и техногенными поллютантами, например свинцом (табл. 4).

Таблица 1

Влияние способов обработки почвы и минеральных удобрений на видовой состав фототрофов

Способ обработки почвы	Число видов фототрофов		
	Без удобрений	N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	N <sub>120</sub> P <sub>120</sub> K <sub>120</sub>
Вспашка	23	18	15
Отвальное лущение	23	17	17
Плоскорезная	23	18	15

Таблица 2

Влияние возрастающих доз минеральных удобрений на параметры фототрофных микробных сообществ почвы

Дозы удобрений	Фототрофное сообщество		
	Число видов	Численность клеток, млн/см <sup>2</sup>	Биомасса, мг/см <sup>2</sup>
(NPK)90	30	10,7	1,478
(NPK)120	25	12,6	1,946
(NPK)150	22	13,0	2,340

Таблица 3

Влияние длительного дифференцированного внесения минеральных удобрений на видовой состав фототрофной микрофлоры

Группы фототрофов	Число видов по вариантам					
	Контроль	N	Ca	CaN	NPK	CaNPK
Цианобактерии						
Безгетероцистные	но	но	3	2	1	3
Гетероцистные	но	но	3	2	1	2
Водоросли						
Зеленые	15	3	3	9	7	3
Желтозеленые	2		2	3	2	2
Диатомовые	но	но	1	1	но	2
Всего видов по вариантам	17	3	12	17	11	12
Реализуемость видо-вого разнообразия, %	46	8	32	46	30	32

*Примечание.* но – не обнаружено; дозы удобрений на 30-летнем стационаре: N 147, P50, K137, NPK– 334 кг/га, CaO – 1,6 т/га – внесение один раз в четыре года.

Результаты флористического анализа, приведенные в таблицах 1–3, показывают, что деструктивные изменения в альго-цианобактериальном сообществе, проявляющиеся в снижении видового разнообразия, коррелируют с возрастанием доз и длительностью применения агрохимикатов. Столь же убедительны результаты видовой инвентаризации альгофлоры почвы, загрязненной ацетатом свинца. По мере повышения концентрации токсиканта происходит существенное снижение видового разнообразия вплоть до полного прекращения размножения водорослей при очень высоких дозах поллютанта (табл. 4).

Влияние свинца на видовое обилие альгофлоры  
дерново-подзолистой супесчаной почвы

Содержание Pb, мг/кг (ПДК)	1,09 (фоновое)	6 (1 ПДК)	60 (10 ПДК)	600 (100 ПДК)	6000 (1000 ПДК)
Количество ви- дов водорослей	20	15	15	8	0

Таким образом, снижение видового состава почвенной альгофлоры – один из показателей загрязнения почвы.

### 1.1.2. Групповой анализ фототрофных сообществ «цветения» почвы

Принципиально новый подход к биоиндикации с помощью фототрофных микроорганизмов, примененный нами, состоял в исследованиях, проводимых в условиях длительных стационарных опытов в агроценозах с анализом фототрофных группировок «цветения» почвы [29, 73].

Анализ фототрофных микроорганизмов в разрастаниях на поверхности имеет ряд преимуществ перед другими методами биоиндикации, будь то сапротрофные микроорганизмы или фототрофный внутрипочвенный комплекс. Эти преимущества заключаются в следующем [29, 125].

При наблюдении за поверхностью почвы в агроэкосистемах легко определить сроки массового размножения фототрофных микроорганизмов («цветение» почвы), которые при этом, безусловно, находятся в деятельном, вегетирующем состоянии, учитывая активное протекание процесса фотосинтеза. Имея дело с внутрипочвенными комплексами фототрофов, мы всегда подсознательно сомневаемся в том, какое место в их метаболизме принадлежит гетеротрофному способу питания, а какое – фототрофии [29, 73, 123, 125].

Наземные фототрофные микробные сообщества (ФМС) более адекватно отражают условия почвенной среды, чем рассеянные в толще почвы и отделенные друг от друга значительными пространствами одиночные особи фототрофов [29, 125].

«Цветение» почвы – пример размножения микроорганизмов до макроразрастаний. В эти периоды плотность наземных фототрофных популяций достигает до нескольких десятков миллионов клеток на  $1 \text{ см}^2$  или на 1 г «цветущей» почвы [73, 123, 125].

Отношения, которые складываются между организмами разных эколого-трофических групп в процессе формирования наземных разрастаний фототрофов, приводят к образованию сообществ, пронизанных сетью аллелопатических и пищевых связей. Поэтому в подобных сообществах легче проследить отклонения от естественного хода сукцессий под влиянием антропогенных факторов. Изучение ФМС «цветения» почвы позволяет использовать оптимальное сочетание методов количественного учета и видового состава возбудителей данного процесса [29, 77, 125].

Проведение экспресс-анализа состояния почвы по групповому анализу наземных ФМС включает этапы [73]:

«1. Взятие в поле репрезентативного среднего образца “цветущей” почвы в соответствующие периоды по стандартным микробиологическим методикам. В случае отсутствия “цветения” можно отбирать поверхностный слой почвы и инициировать процесс “цветения” простым увлажнением почвы в чашках Петри или других прозрачных емкостях, проводя инкубирование в условиях, стандартизированных по освещению и температуре.

2. Проведение количественного учета фототрофных микроорганизмов “цветения” почвы прямым микроскопическим методом (глава 2) с выделением пяти основных эколого-морфологических групп водорослей и ЦБ: одноклеточные зеленые и желтозеленые, нитчатые зеленые и желтозеленые, диатомовые водоросли, безгетероцистные и гетероцистные формы ЦБ. Продолжительность количественного учета в 10-кратной повторности для одного варианта составляет около одного часа.

3. Математическая обработка и составление шкал с учетом процентного участия в структуре сообщества различных групп фототрофов.

На основании полученных данных делается заключение о возможном агрохимическом статусе почвы и соответствии его норме для высшего растения даже раньше того, чем это отражается на качестве и количестве полученного урожая высших растений».

С нашей точки зрения, именно «цветение» почвы отвечает задачам быстрой индикации ее состояния в первую очередь на пахотных почвах.

«Цветение» почвы обнаруживается визуально при осмотре почвы, при этом можно провести рекогносцировочную оценку «цветения» на глаз, определить мощность разрастаний, площадь покрытия почвы «цветением», сроки его появления на разных вариантах опыта.

На поверхности почвы размножаются только те виды, которые входят в альго-цианобактериальный банк данной почвы, а не занесенные извне. Концентрация клеток при «цветении» почвы на единице площади, в объемной или весовой единице существенно выше, чем в глубинных слоях почвы, что повышает точность обработки образцов и достоверность выводов. При «цветении» почвы водоросли и ЦБ в полной мере проявляют себя как фототрофы, что делает более возможным сопоставление и прогнозирование их реакций по сравнению с реакцией высшего растения. При «цветении» почвы в диагностических целях можно параллельно проводить исследования таких функциональных процессов, как фотосинтез и азотфиксация, что недостижимо для внутрипочвенных комплексов [29, 73, 125].

Инициация «цветения» почвы легко воспроизводится в лабораторных условиях простым увлажнением почвы и может многократно воспроизводиться в зависимости от задач исследования. При этом, в отличие от инициированных сапротрофных сообществ, не требуется дополнительного источника энергии или пищи в виде крахмала, глюкозы, хитина и т. д. [29, 72, 73, 125].

Одна из особенностей развития наземных ФМС – наличие сезонных сукцессий, ярко выраженных в умеренной зоне и отражающих динамику биогенных элементов в почве. При этом полная реализация видового потенциала фототрофов в норме происходит только в конце вегетационного сезона. Вследствие этого в весенний и ранне-летний периоды, когда доминирующими формами являются представители Chlorophyta, Xanthophyta, Bacillariophyta, возможны только сравнительные определения интенсивности развития данных таксономических групп по количественным показателям численности клеток и их биомассы. Варьирование этих показателей может быть значительным и отражает разницу обеспеченности почвы биогенными элементами. Начиная со второй половины июля, когда полноценно заявляют о себе поздне-сукцессионные виды – безгетероцистные и гетероцистные ЦБ, вплоть до послеуборочной перепашки почвы или ухода земли под снег возможно биоиндикационное обследование почвы по ее «цветению» [29, 73, 123, 125].

Так, при анализе группового состава ФМС «цветения» почвы явно прослеживается тенденция их эволюции в зависимости от доз, сроков и форм применяемых агрохимикатов, которая проявляется в сильнейшей вариабельности их группового состава на одной и той же почве и нарушении естественного хода сезонных сукцессий.

Естественный ход сезонного развития наземных ФМС хорошо прослеживается в неудобряемой почве или в агроценозах неинтенсивного землепользования (рис. 1). При весенней обеспеченности почвы минеральными элементами, которые содержатся в ней или в результате предпосевного внесения или накапливаются в ходе минерализации пожнивных остатков, видовая структура ФМС складывается группировками зеленых, желтозеленых и диатомовых водорослей, при этом доля зеленых составляет около 90% от общей численности клеток. Обычно в этот период совершенно не выражен прокариотный фототрофный компонент.

Постепенное исчерпание питательных веществ, и прежде всего минерального азота вследствие поглощения его из почвы высшим растением и потерь при микробиологических процессах, приводит к стремительному возрастанию доли ЦБ в структуре сообщества (до 95% от общей численности клеток).

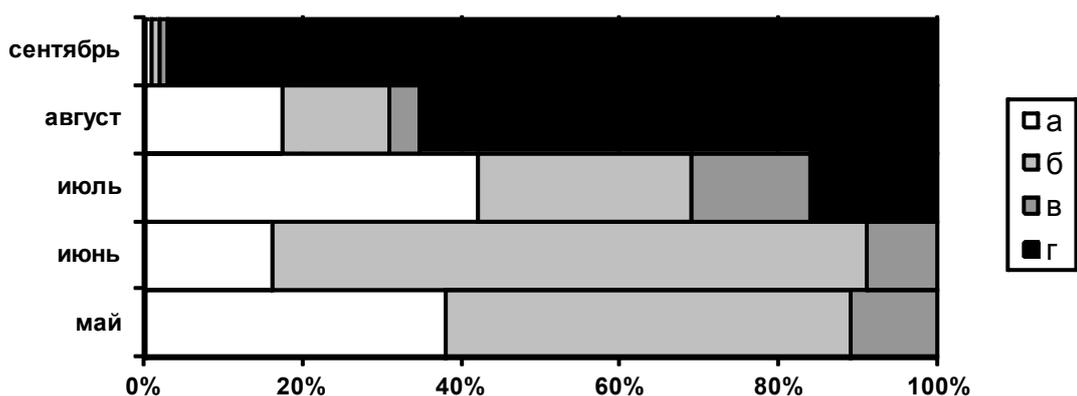


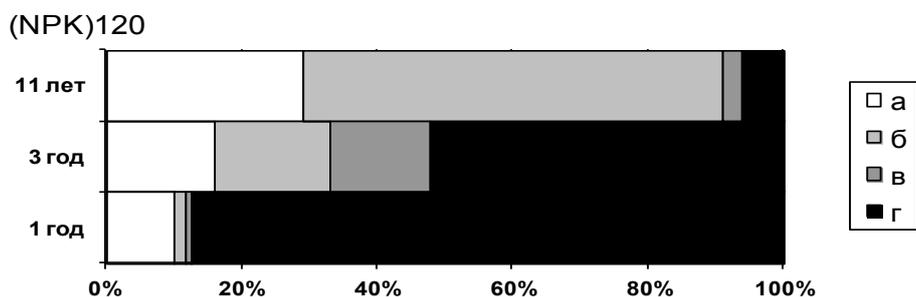
Рис. 1. Изменение структуры (% от численности клеток) наземных фототрофных микробных сообществ в ходе сезонной сукцессии.

Условные обозначения: а – одноклеточные зеленые и желтозеленые водоросли, б – нитчатые зеленые и желтозеленые водоросли, в – диатомовые водоросли, г – цианобактерии

Сезонная смена доминантов при динамике биогенных элементов хорошо изучена на примере фитопланктонных сообществ. Например, популяции фитопланктона в олиготрофном озере различались по своему составу в течение сезона в зависимости от уровня аммония в среде. При его минимальных значениях в популяции доминировали ЦБ. Когда же уровень неорганического азота возобновлялся, популяция нового состава из зеленых водорослей замещала ЦБ.

Сравнительно однородный поток биогенных элементов в целинных и залежных экосистемах умеренной зоны, связанный с ежегодным отмиранием и разложением однотипного растительного и животного опада, с определенным водно-воздушным режимом, кислотнo-солевым и гранулометрическим составом почвы определяет верхние и нижние пределы плотности популяций в ФМС и их сезонную динамику. В то же время любое антропогенное воздействие, связанное с привнесением в экосистему дополнительных биогенных элементов, мгновенно сказывается на основных количественных и качественных характеристиках таких мобильных сообществ, как ФМС.

Чем более длительными становятся антропогенные воздействия, тем глубже закрепляются и стабилизируются изменения в ценопопуляциях фототрофных микроорганизмов [125]. Сравнение эффекта применения минеральных удобрений в автотрофной популяции после одного, трех и 11 лет их воздействия показывает, что меняется групповая структура и видовое разнообразие в первую очередь за счет репрессии цианобактерий (рис. 2) [29, 73].



*Рис. 2.* Влияние длительности внесения минеральных удобрений на структуру фототрофных микробных сообществ «цветения» почвы. Условные обозначения: а – одноклеточные зеленые и желтозеленые водоросли, б – нитчатые зеленые и желтозеленые водоросли, в – диатомеи, г – цианобактерии

Групповая структура и видовое разнообразие ФМС меняются и при применении возрастающих доз азотных удобрений, что демонстрируют результаты опытов на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве в Кировской области (рис. 3) [29].

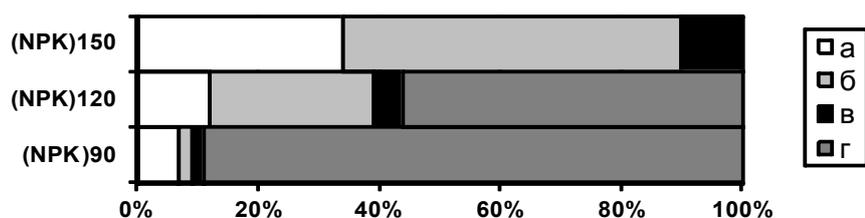


Рис. 3. Влияние возрастающих доз минеральных удобрений на структуру наземных фототрофных микробных сообществ дерново-подзолистой почвы. Условные обозначения: а – одноклеточные зеленые и желтозеленые водоросли, б – нитчатые зеленые и желтозеленые, в – диатомеи, г – цианобактерии

При очень длительных воздействиях на почвенную микрофлору только минеральных удобрений (30-летний стационар) ФМС переживают дигрессию до стадии катаценоза (рис. 4, вариант N). Ежегодное внесение азота в дозе 147 кг/га привело к монофикации ФМС на уровне трех видов одноклеточных зеленых водорослей (табл. 3). Истощение почвы в контрольном (неудобренном варианте), повышенная кислотность блокируют размножение ЦБ. Только известкование почвы способствует наиболее полной реализации видового и группового потенциала фототрофов (варианты Ca, CaN, CaNPK) [29].

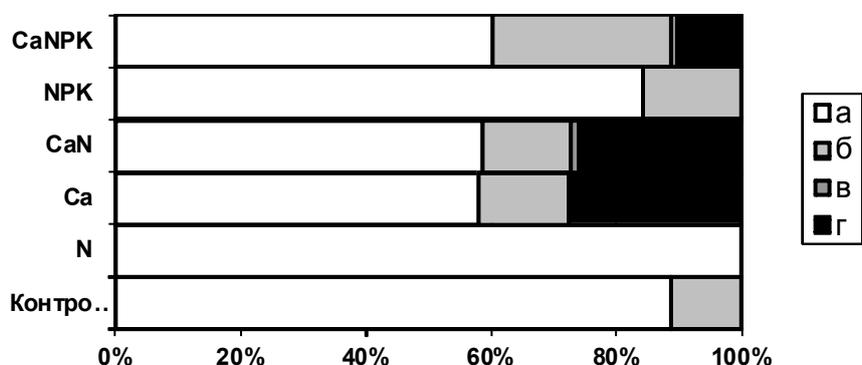


Рис. 4. Групповой состав фототрофных микроорганизмов при «цветении» почвы на 30-летнем стационаре (% от численности клеток). Условные обозначения: а – одноклеточные зеленые водоросли, б – нитчатые зеленые, в – диатомеи, г – цианобактерии

Дозы минеральных удобрений приведены в табл. 3 [29].

Используя групповой анализ наземных разрастаний, можно судить о биологическом благополучии почв по следующим показателям [73]:

«1. Полночленность фототрофной микробной ассоциации на поверхности почвы с наличием всех эколого-морфологических групп фототрофов: одноклеточные зеленые и желтозеленые водоросли, нитчатые зеленые и желтозеленые водоросли, диатомеи, безгетероцистные и гетероцистные ЦБ.

2. Относительно равномерное процентное соотношение различных группировок.

3. Видовое разнообразие, которое легко установить по форме клеток любому специалисту – ботанику, микробиологу, почвоведу, агроному.

Почву, на поверхности которой в конце вегетационного сезона развиваются подобные ФМС, можно считать пребывающей в состоянии, которое в современной прикладной экологии оценивается как “норма” (рис. 5).

О надвигающемся биологическом неблагополучии почвы свидетельствует тот факт, что в составе ФМС начинает явно доминировать какая-то группировка, причем в любой срок наблюдения именно эта группировка остается преобладающей. Можно предполагать, что почва вступает в зону “риска”.

Исчезновение из наземных ФМС азотфиксирующих ЦБ, важнейшей группы для природного азотного баланса почвы, – признак надвигающегося “кризиса”.

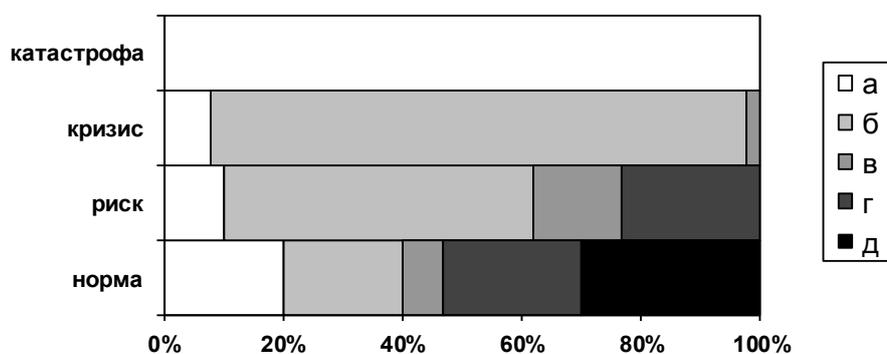


Рис. 5. Индикаторная шкала оценки биологического состояния почвы по ее “цветению”. Условные обозначения: а – одноклеточные зеленые и желтозеленые водоросли, б – нитчатые зеленые и желтозеленые водоросли, в – диатомеи, г – безгетероцистные цианобактерии, д – гетероцистные цианобактерии

Унификация видового состава сообщества на уровне немногих видов одноклеточных зеленых водорослей – показатель накопления почвой фитотоксических свойств (т. е. явное состояние “катастрофы”), делающих ее непригодной для высшего растения».

Отдельный случай группового анализа ФМС связан с особой ролью ЦБ в почвах техногенно загрязненных почв. Поллютанты, попадающие в почву в результате хозяйственной деятельности людей, оказывают сильное воздействие на микробную составляющую почвы, в том числе и на ее фототрофный компонент – эу- и прокариотные водоросли (ЦБ). Круг поллютантов, попадающих в почву, практически не снижается в последние годы. Наоборот, к числу загрязнителей окружающей среды (ОС) присоединяются все новые вещества, степень токсичности которых в жизни почвенной микробиоты и требуется определить [73, 123, 125].

Проблема взаимодействия поллютантов и микрофототрофов исследуется в нескольких направлениях. Так, например, в чистых культурах изучают изменение морфологических, физиологических и биохимических свойств клеток водорослей при их контакте с токсикантами [43, 47]. Показано, что токсическое действие таких поллютантов, как тяжелые металлы, пестициды, удобрения, проявляется в ингибировании процессов фотосинтеза, азотфиксации, кинетики роста и т. п. Другое важное направление исследований связано с вопросами диагностики и индикации состояния почвы при ее загрязнении по изменению качественного и количественного состава альгогруппировок. Доказано, что загрязнение почвы приводит к снижению видового разнообразия, монофикации альгоценозов, выходу на лидирующие позиции при определенных видах загрязнения определенных видов или группировок водорослей [72, 74, 108, 124–126]. Наличие четких ответных реакций фототрофов на возрастающие концентрации ксенобиотиков позволяет использовать данные виды водорослей в качестве тест-организмов [77], а также применять групповой анализ поверхностных разрастаний при «цветении» почвы для ее экологической экспертизы [73, 123, 125].

Проведенное нами изучение роли ЦБ в процессах, протекающих в педосфере, показало, что можно выделить несколько аспектов, связанных с возможностями использования этих организмов в биодиагностике: цианофитизация микробных комплексов, выявляемая в ходе биоиндикации, а также изменение физиолого-биохимических откликов клеток на действие токсикантов при проведении биотестирования. Приведем несколько примеров, иллюстрирующих данное утверждение.

**Цианофитизация фототрофных микробных комплексов как фактор изменения группового состава фототрофных микробных сообществ при техногенном загрязнении почвы.** В почвах, под-

верженных постоянно воздействию поллютантов различной химической природы, создаются условия для развития специфических группировок ЦБ. Химическое загрязнение территорий нарушает ход природных сезонных сукцессий, при которых происходит последовательная смена эукариотных и прокариотных фототрофов. Освоение экониш с повышенным содержанием тяжелых металлов (ТМ), мышьяка, фосфорорганических соединений и других токсикантов происходит в основном за счет круглогодичного доминирования различных видов гетероцистных и безгетероцистных ЦБ.

Биоиндикация состояния почвы выявила определенный статус цианобактериальных комплексов. Так, сравнительное изучение видового состава фотосинтезирующей микрофлоры почв природных, урбанизированных и техногенных экосистем показало, что в наиболее загрязненных почвах в альго-цианобактериальных комплексах происходит перераспределение таксонов в пользу цианопрокариот (цианофитизация альгоценозов) [125]. При этом наиболее устойчивыми видами к любым загрязняющим веществам являются *Nostoc commune*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *N. punctiforme*, *Phormidium autumnale*, *Ph. uncinatum*, *Ph. boryanum*, *Leptolyngbya foveolarum*, *L. fragile*, *Microcoleus vaginatus*.

При анализе структуры фототрофных микробных комплексов (данные количественного учета) установлено, что в зависимости от длительности действия антропогенного загрязнения и природы поллютантов доля цианобактериального компонента может достигать до 98% (табл. 5), в то время как в контрольных вариантах (фоновые территории) этот показатель на момент анализа не превышал 30–40%.

Таблица 5

Влияние поллютантов на структуру альго-цианобактериальных комплексов почвы (%)

Характер загрязнения	Водоросли	Цианобактерии
Автотранспортное	1,7	98,3
Промышленное (тяжелые металлы)	18,3	81,7
Пестицидное	15,3	84,7
Пирофосфат натрия	8,2	91,8
Азид натрия	25,3	74,7
Ацетат свинца	14,9	85,1

Исследования почв и грунтов, проведенные нами в зоне действия горно-металлургического комбината (ГМК), показали, что даже при очень высоком содержании в них ТМ наблюдается вегетация фототрофных микроорганизмов (МО). При этом участие ЦБ в структуре альго-цианобактериальных сообществ колеблется от 87 до 97% (табл. 6).

Структура альго-цианобактериальных сообществ  
при загрязнении почв тяжелыми металлами в зоне действия  
горно-металлургического комбината

№ участка	Содержание тяжелых металлов, мг/кг					Структура альго-цианобактериальных сообществ, %	
	Cu	Ni	Pb	Cd	Zn	Водоросли	Цианобактерии
1	46,25±0,35	25,01±0,10	185±17	119±18	1400±110	12,48	87,52
2	2895,8±3,2	42,75±0,36	7736±6	299±5	8190±160	10,83	89,17
3	91,5±1,4	5,80±0,31	829±15	34,25±0,35	3350±140	2,62	97,38
ПДК (ОДК)	3,0	4,0	6,0	0,5	23,0		

В серии полевых исследований определяли характер поведения водорослей и ЦБ при искусственном внесении в почву таких поллютантов, как ацетат свинца (в дальнейшем – свинец), пирофосфат натрия (ПФН) и азид натрия (азид). Выбор для изучения данных поллютантов определялся следующим: свинец – один из наиболее распространенных в ОС тяжелых металлов загрязнителей; ПФН как форма техногенного фосфора может потенциально оказаться в ОС при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) и использовании в быту моющих препаратов. Вопрос о циркуляции данного соединения в ОС чрезвычайно актуален для регионов России, где пока еще действуют объекты по хранению и уничтожению химического оружия, а также в связи с расширяющимся ассортиментом мыломоющих средств. Азид натрия используется в технологии получения взрывоопасных соединений. Для использования азид натрия в мирных целях пытаются найти реальные пути его утилизации, безопасные для ОС. В последние годы возникла идея дезинфекции газонов и других городских территорий с помощью азид натрия против яиц гельминтов, распространяемых с экскрементами домашних и бродячих плотоядных [14, 29]. Для безопасности ОС перед применением данного препарата в качестве дезинфеканта необходима его экспериментальная оценка.

Действие свинца изучали на пахотной почве, ПФН – на участке под лугом, азид натрия – в городской среде под посевом газонных трав. Изучаемые поллютанты вносили на делянки в двух концентрациях. Дозы вносимого свинца составляли 600 и 1200 мг/кг почвы. Доза внесения

ПФН (расчетная доза – РД) соответствовала уровню его предельного выпадения на поверхность почвы, который рассчитывался исходя из предположения, что весь фосфор, входящий в состав ФОВ, будет при сжигании продуктов детоксикации выбрасываться в атмосферу в форме минерального фосфора (ПФН) [29, 125]. 1 РД для дерново-подзоистой почвы составила 4,5 г/м<sup>2</sup>, соответственно, при 10 РД доза внесения ПФН – 45 г/м<sup>2</sup>. Концентрация азидата натрия, которым поверхностно обрабатывали почву микроделянок, составляла 0,1 и 0,3%. Пробы почвы для качественного и количественного анализа альгофлоры отбирали через три месяца после закладки опыта. Видовой состав водорослей определяли в водных и чашечных культурах. Численность клеток водорослей подсчитывали на мазках под микроскопом [124–126].

При загрязнении почвы свинцом обнаружены достоверные изменения количественных характеристик альгоценозов. Свинец в любой применяемой концентрации приводит к резкому (в четыре раза) снижению численности фототрофов в почве (табл. 7). В первую очередь это падение численности клеток обусловлено группировками одноклеточных зеленых и диатомовых водорослей и азотфиксирующих гетероцистных ЦБ. Полностью исчезают из структуры популяций нитчатые зеленые водоросли. Наибольшую устойчивость проявили безгетероцистные ЦБ – их популяция при загрязнении свинцом практически остается на уровне контроля [124–126].

Таблица 7

Влияние возрастающих концентраций ионов свинца на численность водорослей в дерново-подзоистой почве (тыс. клеток/г)

Содержание внесенного свинца, мг/кг	Группы водорослей					
	Одн. зел.*	Нит. зел.*	Диатомеи	БГЦ*	ГЦ*	Всего
0 (контроль)	1470±185	89±18	155±19	878±103	1130±145	3722±470
600	230±13	0	20±4	530±40	120±24	900±81
1200	130±9	0	10±3	600±77	200±46	940±135

*Примечание.* \* – сокращения. Одн. зел. – одноклеточные зеленые водоросли; Нит. зел. – нитчатые зеленые водоросли; БГЦ – безгетероцистные ЦБ; ГЦ – гетероцистные ЦБ.

В отличие от свинца ПФН в концентрации 1 РД не токсичен для ЦБ, а подавляет развитие только представителей Chlorophyta, тогда как при 10 РД пиррофосфата натрия происходит ингибирование размножения всех групп фототрофов (табл. 8).

Таблица 8

Влияние пирофосфата натрия на численность фототрофов  
в дерново-подзолистой почве (тыс. клеток/г)

Вариант	Группы фототрофов			
	Зеленые	Диатомовые	Цианобактерии	Всего
Контроль	900±173	130±5	2100±107	3130±285
1 РД	230±6	270±15	2900±500	3400±521
10 РД	200±10	100	730±115	1030±125

Опыты с азидом натрия были заложены на участке, выделенном для декоративного оформления территории вокруг учебного корпуса Вятской государственной сельскохозяйственной академии [14]. Пробные делянки за две недели до обработки азидом засевали смесью газонных трав. При количественном учете водорослей через два месяца было установлено, что применение данного препарата привело к резкой стимуляции размножения ЦБ и возрастанию общей численности фототрофов в 3,4 раза при концентрации азиды 0,1% и в 4,3 раза – при концентрации 0,3% (табл. 9). Реакция эукариотных водорослей не столь однозначна. Угнетение зеленых водорослей наблюдается только при 0,3%-ном азиде, в то время как для диатомей азид натрия выступает в роли стимулятора их размножения (численность клеток диатомовых водорослей возрастает в 9 раз при обработке почвы 0,3%-ным раствором).

Таблица 9

Влияние возрастающих концентраций азиды натрия на численность фототрофных микроорганизмов в дерново-подзолистой почве (тыс. клеток/г)

Вариант	Группы фототрофов			
	Зеленые водоросли	Диатомовые водоросли	Цианобактерии	Всего
Контроль	670±100	30	266±80	966±180
Азид 0,1%	770±100	66	2470±60	3306±160
Азид 0,3%	100±10	270±50	3770±150	4140±210

Сравнение репрессивной активности трех изучаемых поллютантов показывает, что в случае, когда токсикантом является свинец, происходит подавление размножения водорослей в почве независимо от концентрации применяемого соединения. Пирофосфат натрия ингибирует размножение фототрофов при высокой концентрации. Азид натрия выступает, наоборот, как стимулятор размножения почвенных водорослей. Возможные объяснения наблюдаемых явлений, вероят-

но, связаны с химической природой поллютантов. Так, свинец, как и другие ТМ, оказывает ингибирующее действие на большинство почвенных микроорганизмов вследствие подавления биохимических функций клетки [138, 115]. В то же время в различных систематических группах микробов существуют представители, обладающие способностью к детоксикации данного элемента [224, 225]. Однако в определенных почвенных системах эти организмы могут отсутствовать совсем или быть представлены незначительным количеством особей. И пирофосфат натрия, и азид натрия – соединения, которые подвергаются гидролизу благодаря активности почвенных ферментов. Вероятно, поэтому за два-три летних месяца бóльшая часть этих веществ превращается в ионы, не токсичные для фототрофов.

Общим в действии всех испытанных поллютантов стала их регулирующая роль в формировании почвенных альгоценозов. Под влиянием испытываемых соединений усиливаются лидирующие позиции ЦБ в структуре популяций фототрофов (табл. 10).

Таблица 10

Влияние поллютантов на структуру популяций фототрофов (%)

Вариант	Водоросли	Цианобактерии
Свинец		
Контроль	46,1	53,9
600 мг/кг	27,7	72,3
1200 мг/кг	14,9	85,1
Пирофосфат натрия		
Контроль	49,0	51,0
1 РД	14,7	85,3
10 РД	14,2	85,8
Азид натрия		
Контроль	72,5	27,5
0,1%	22,2	77,8
0,3%	8,9	91,1

*Примечание.* РД – расчетная доза.

В качестве общей закономерности действия изучаемых поллютантов (свинца, ПФН и азид натрия) отмечается:

1. Уменьшение видового разнообразия альгофлоры.
2. Изменение общей численности водорослей как в сторону резкого снижения (при действии свинца и высоких концентраций ПФН), так и в сторону активного размножения (при действии азид натрия).

3. Изменение структуры альгоценозов, связанное с усилением доминирования ЦБ при одновременном снижении роли эукариотных форм [124, 125].

Аналогичные изменения структуры фототрофных популяций наблюдаются при действии на почву и других ТМ, например, таких как ионы меди (табл. 11) [88, 56]. Уровень доминирования ЦБ повышается по мере увеличения концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  в почве с 66,9% (в контроле) до 87,3 (при  $\text{Cu}^{2+}$  300 мг/кг).

Таблица 11

Влияние возрастающих концентраций ионов меди на структуру фототрофных популяций в почве (%)

Контроль		$\text{Cu}^{2+}$ 3 мг/кг		$\text{Cu}^{2+}$ 150 мг/кг		$\text{Cu}^{2+}$ 300 мг/кг	
В	ЦБ	В	ЦБ	В	ЦБ	В	ЦБ
33,1	66,9	20,0	80,0	17,9	82,1	12,7	87,3

Примечание. В – водоросли, ЦБ – цианобактерии.

При изучении специфики альго-цианобактериальных комплексов урбаноземов также установлено, что максимальное развитие цианобактериального компонента характерно для наиболее загрязненных зон города (промышленной и транспортной) (табл. 12) [82, 84].

Таблица 12

Структура популяций фототрофов (%)

Участки отбора проб (г. Киров)	Водоросли	Цианобактерии
ТЭЦ-5 (промышленная зона)	6,8	93,2
Александровский сад (парковая зона)	70,3	29,7
Ул. Производственная (транспортная зона)	2,9	97,1

Таким образом, цианофитизация почвенных альгоценозов является неспецифической ответной реакцией фототрофных популяций на загрязнение почвы.

### 1.1.3. Характеристика альго-микологических комплексов

Водоросли и грибы – постоянные компоненты почвенной микробиоты, занимающие полярное положение в трофических цепях. Уровень развития водорослей (численность и биомасса) характеризует интенсивность первичного продукционного процесса и, следовательно, объем поступающего в почву свежего органического вещества, ценность которого не только в легкой доступности для представителей

микро- и мезофауны, но и в высокой степени оборачиваемости. Доказано, что в почвенных ценозах, как и в водных экосистемах, продукция водорослей многократно превышает размеры одномоментной биомассы [73], поэтому пищевая пирамида, в основе которой лежат почвенные микроредотрофы, как и в водной среде, является перевернутой и обеспечивает пищей значительный круг консументов. Кроме того, прижизненные выделения водорослей и отмершие клетки легко подвергаются минерализации в результате деятельности бактерий и грибов, обеспечивая быстрый возврат в почву биогенных элементов.

Степень накопления грибной биомассы (в первую очередь мицелиальной), с одной стороны, характеризует интенсивность редуционных процессов, с другой стороны, косвенным образом свидетельствует о процессах гумификации. Поэтому запасы водорослево-грибной биомассы – весомый показатель биологической активности почвы.

Исследования, проведенные в 2004–2005 гг. по одновременному параллельному определению количественных параметров альго-микологических комплексов некоторых луговых и лесных почв Кировской области, показали, что различные типы почв резко различаются по таким количественным характеристикам, как биомасса и численность клеток водорослей, биомасса и длина мицелия микромицетов [68, 81]. Исследуемые нами почвы относятся к нескольким типам. На лесных участках распространены подзолистые песчаные (Пп) и супесчаные (Пу) почвы, на луговых – дерново-подзолистые супесчаные (П<sup>п</sup>у), суглинистые (П<sup>д</sup>с) и аллювиальные среднесуглинистые (А) почвы, на участках с избыточным увлажнением – торфяно-подзолисто-глеевые (П<sup>б</sup>) и дерновые оглеенные (Д<sup>г</sup>) почвы. На лесных почвах встречаются следующие растительные ассоциации: березово-сосновые, елово-березово-сосновые, березняки. В составе луговой растительности преобладает полевица тонкая (*Agrostis vulgaris* With), полевица гигантская (*Agrostis gigantean* Roth), лютик едкий (*Ranunculus acris* L.), тимофеевка луговая (*Phleum pratense* L.) и ежа сборная (*Dactylis glomerata* L.), на переувлажненных участках – лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* Maxim.), вербейник обыкновенный (*Lysimachia vulgaris* L.) и осоки (*Carex*).

Изучение количественного состава альгофлоры прямым микроскопическим методом показало, что в период исследования численность зеленых одноклеточных водорослей колебалась в широких пределах в почвах в окрестностях объекта уничтожения химического оружия (ОУХО) (рис. 6). При этом максимальный размах колебаний

численности зеленых водорослей отмечен для подзолистых песчаных и супесчаных почв от 27 до 820 тыс. клеток/г, т. е. в 30 раз. Значителен этот показатель (24 раза) в болотной и дерново-глеевой почве и очень мал в дерново-подзолистой суглинистой и аллювиальной дерновой почве (2,6 раза). В последней почве отмечены минимальные показатели численности и биомассы зеленых водорослей (рис. 6, 7).

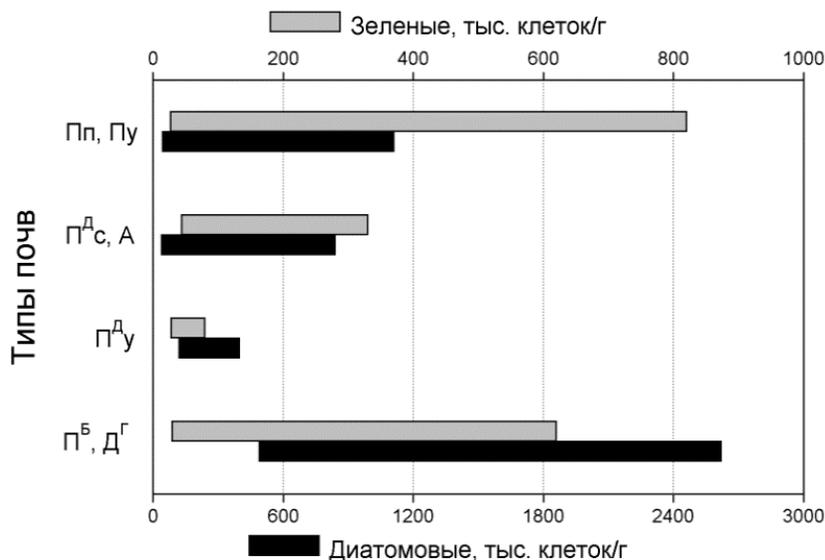


Рис. 6. Пределы колебаний численности водорослей в почве в окрестностях ОУХО. Обозначения типов почвы: Пп – подзолистые песчаные; Пу – подзолистые супесчаные; П<sup>дс</sup> – дерново-подзолистые среднесуглинистые; А – аллювиальные среднесуглинистые; П<sup>ду</sup> – дерново-подзолистые супесчаные; П<sup>б</sup> – торфяно-подзолисто-глеевые; Д<sup>г</sup> – дерновые оглееные

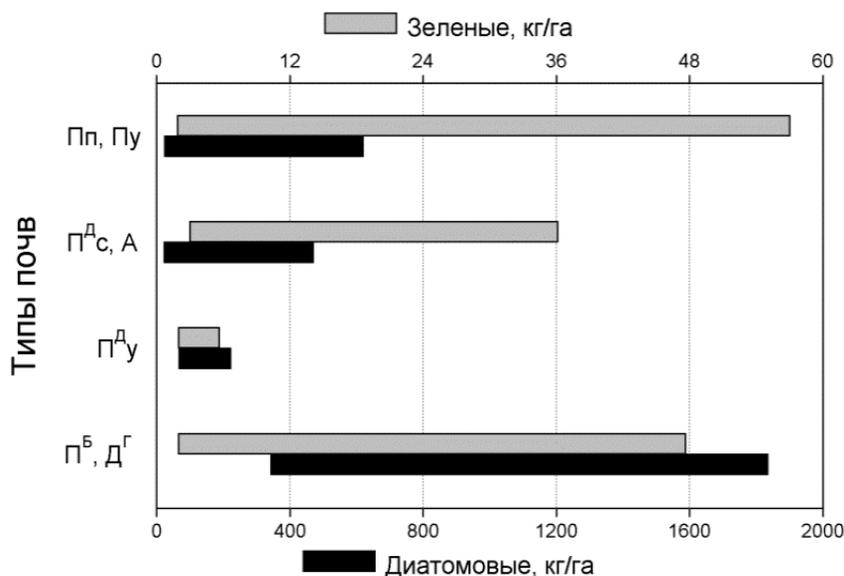


Рис. 7. Пределы колебаний биомассы водорослей в окрестностях ОУХО (обозначения типов почв такие же, как на рис. 6)

В целом биомасса зеленых водорослей незначительна, не превышает 50 кг/га, но при этом может играть существенную роль в питании почвенных беспозвоночных вследствие высокой скорости обновления. Гораздо весомее вклад в биомассу фототрофов диатомовых водорослей. При численности клеток 2,6 млн/г их биомасса достигает 1,8 т/га (рис. 6, 7). Максимальный размах амплитуды колебаний численности диатомей, так же как и у зеленых водорослей, наблюдается в подзолистых песчаных и супесчаных почвах (25 раз), значителен в дерново-подзолистой супесчаной (21 раз) и невелик для дерново-подзолистой суглинистой и дерново-глеевой почвы – 3,3 и 5,3 раза соответственно. Именно за счет диатомей суммарные запасы альгобиомассы в некоторых почвах сопоставимы с грибными и даже могут их превосходить (рис. 7, 8). Наличие фотосинтезирующего компонента в микробиоте изученных почв обеспечивает высокую скорость продукционных процессов, быструю обновляемость живой биомассы продуцентов за счет высокой скорости размножения и активизацию жизнедеятельности представителей сапро- и биотрофных комплексов педобионтов. Такая важная группировка фототрофов, как ЦБ, практически не встречается при прямом количественном учете. Однако в лабораторных микросомах именно эти микроорганизмы часто доминируют на финальных стадиях аутогенной сукцессии. Вероятно, наличие ЦБ в микробном банке луговых и лесных почв значительно повышает адаптационный потенциал почв при различных стрессовых воздействиях, в том числе и при накоплении мышьяка и ТМ.

Весомый вклад в протекание почвенных процессов вносят и такие постоянные обитатели почв, как микромицеты. Показано, что характер их развития отчетливо коррелирует и с типом почвы, и с типом растительной ассоциации. О степени активности грибов можно судить по длине мицелия. Максимальной величины (до 930 м/г) этот показатель достигает в подзолистых почвах под лесными фитоценозами с биомассой до 2,5 т/га (рис. 8). Грибы как ацидотолерантные микроорганизмы легко размножаются при кислой реакции среды. За счет выделения экзоферментов микромицеты активно гидролизуют трудно-разлагаемые компоненты древесного опада (лигнин, ксиланы, целлюлозу). В луговых фитоценозах на дерново-подзолистых почвах легкого гранулометрического состава характер разложения растительного опада существенно отличается. Доминантами гидролитических процессов являются миксобактерии и актиномицеты, вытесняя грибы как гидролитики с лидирующих позиций. Поэтому длина грибного мице-

лия значительно короче. В болотно-подзолистой и дерново-глеевой почвах также наблюдается замедление развития грибов. В данных почвах длина грибного мицелия не превышает 300 м/г, а минимальные показатели – 29–53 м/г почвы (рис. 8). Различия в запасах микобиомассы, отраженные на рисунке 8, были существенны по типам почвы, но в пределах одного типа амплитуда колебаний значений биомассы была не столь велика, как у водорослей, и лежала в пределах 5,2–6,8 раза, тогда как для водорослей этот показатель был 25–30 раз.

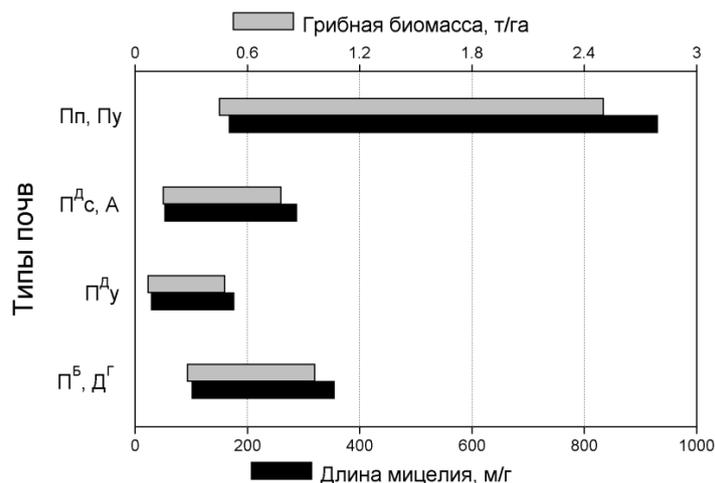


Рис. 8. Пределы колебаний грибной биомассы и длины мицелия в почвах в окрестностях ОУХО (обозначения типов почв такие же, как на рис. 6)

Судя по всему, грибная флора является более стабильным и консервативным компонентом почвенной микробиоты, чем альгофлора. Скорости ответных реакций грибной биомассы на изменение экологических условий более замедленны, чем у водорослей. Так, временной интервал резкого изменения биомассы водорослей в несколько раз при изменении погодных условий или под влиянием антропогенных факторов может составлять всего сутки [73]. В то же время значительные изменения грибной биомассы в сторону нарастания мицелия или его уменьшения за счет лизиса и перехода к спорообразованию наблюдаются лишь через несколько месяцев после воздействия [146].

Таким образом, выявление в исследуемых почвах значительных запасов микробной биомассы (до нескольких тонн на 1 га) позволяет считать, что альго-микологические комплексы играют существенную роль в процессах биотической саморегуляции почвы. Однако на степень развития водорослей и грибов оказывает влияние не только тип почвы и характер растительного опада, но и степень загрязнения почвы ксенобиотиками. Экспериментально установлено, что при возрас-

тании концентрации в почве свинца в альго-микологических комплексах происходит увеличение доли микромицетов с одновременным сокращением вклада водорослей, при полном их исчезновении с концентрацией свинца в почве, соответствующей 1000 ПДК (табл. 13).

Таблица 13

Влияние свинца на соотношение грибов и водорослей  
в структуре наземных популяций (%)

Рь	1 ПДК	10 ПДК	100 ПДК	1000 ПДК
Грибы	30,4	58,5	70,5	100
Водоросли	69,6	41,5	29,5	0

#### 1.1.4. Использование микромицетов в биоиндикации

Микологический мониторинг является неотъемлемой частью биомониторинга [77, 146, 215]. Доказано, что наиболее информативными показателями, используемыми для диагностики состояния экосистем, можно считать соотношение в структуре популяций грибов с пигментированным и бесцветным мицелием; соотношение их быстро и медленно растущих видов; споровой и мицелиальной биомассы; общую численность микромицетов при высоком уровне техногенных нагрузок; индексы разнообразия грибов и др. Одним из важнейших признаков, учитываемых при микоиндикации, является соотношение в их структуре популяций с бесцветным и окрашенным мицелием. Меланизация микокомплексов в экологии почв рассматривается как важный биоиндикационный признак на загрязнение почвы поллютантами различной химической природы. В частности, загрязнение почвы приводит к стремительному увеличению численности в микоценозах грибов с меланизированным мицелием, поскольку меланины способны к детоксикации вредных соединений.

Для городских почв (урбаноземов) [146, 215], а также для почв техногенных территорий [77] неоднократно отмечался феномен аккумуляции меланинсодержащих грибов. Возможно, увеличение доли темноокрашенных грибов связано с известной устойчивостью некоторых видов к ряду загрязнений – радионуклидам, ТМ и др. [146]. Поэтому преобладание в структуре популяций почвенных микромицетов форм с темноокрашенным мицелием (свыше 60–70%) является показателем химического загрязнения почвы [125].

Пигменты меланины за счет способности к детоксикации ядовитых соединений способствуют повышению выживаемости организмов в экстремальных условиях [125].

Микоиндикация активно используется для оценки состояния почв при их хроническом и остром загрязнении поллютантами различной химической природы.

С использованием комплексов микромицетов, по процентному содержанию в них темноокрашенных грибов, проводился мониторинг фоновых и загрязненных территорий вблизи объекта хранения и уничтожения химического оружия [29]. По материалам исследований удалось выявить, что в загрязненных почвах представительство темноокрашенных грибов превышает 50%, причем для некоторых почв существенно, достигая 95,7% в аллювиальной дерновой глеевой почве (табл. 14) [29, 81]. Полученные результаты вполне согласуются с литературными данными, по которым в загрязненных почвах обилие темноокрашенных грибов на 15–30% больше, чем на фоновых территориях [146]. Выявленные нами показатели даже существенно выше литературных данных.

*Таблица 14*

Численность грибов с темноокрашенным мицелием  
в фоновых и загрязненных почвах (%)

Почва	Дерново-подзолистая супесчаная	Среднеподзолистая песчаная	Аллювиальная дерновая глеевая	Аллювиальная дерновая среднеподзолистая
Фоновая	23,2	49,9	15,3	25,0
Загрязненная	56,0	83,6	95,7	83,6

С целью отработки методов биоиндикации с использованием микромицетов проведена серия модельных экспериментов. Так, при внесении ацетата свинца в дерново-подзолистую почву выявлено, что при возрастании концентрации данного ТМ доля меланизированных микромицетов увеличивается с 47,5% в контроле до 73,6% в варианте с концентрацией ионов свинца 1200 мг/кг (табл. 15).

В условиях хронического загрязнения почвы свинцом в зоне действия Кирово-Чепецкого промышленного комплекса (КЧПК, г. Кирово-Чепецк Кировской области) и горно-металлургического комбината (ГМК, г. Владикавказ Республики Северная Осетия Алания) уровень

развития меланизированных грибов также остается стабильно высоким (табл. 16).

Таблица 15

Влияние возрастающих концентраций свинца  
на структуру грибных комплексов (%)

Pb, мг/кг	Микромицеты	
	с окрашенным мицелием	с бесцветным мицелием
Контроль	47,5	52,5
600	63,8	63,2
1200	73,6	26,4

Таблица 16

Структура грибных комплексов при хроническом загрязнении  
почвы свинцом (%)

Pb, мг/кг	Микромицеты	
	с окрашенным мицелием	с бесцветным мицелием
38 (КЧПК)	74,6	25,4
7736 (ГМК)	78,1	21,9

Микологический анализ был использован нами для диагностики состояния почвы при множественном ее загрязнении ионами ТМ в зоне действия КЧПК и ГМК (рис. 9) [56, 57, 69].

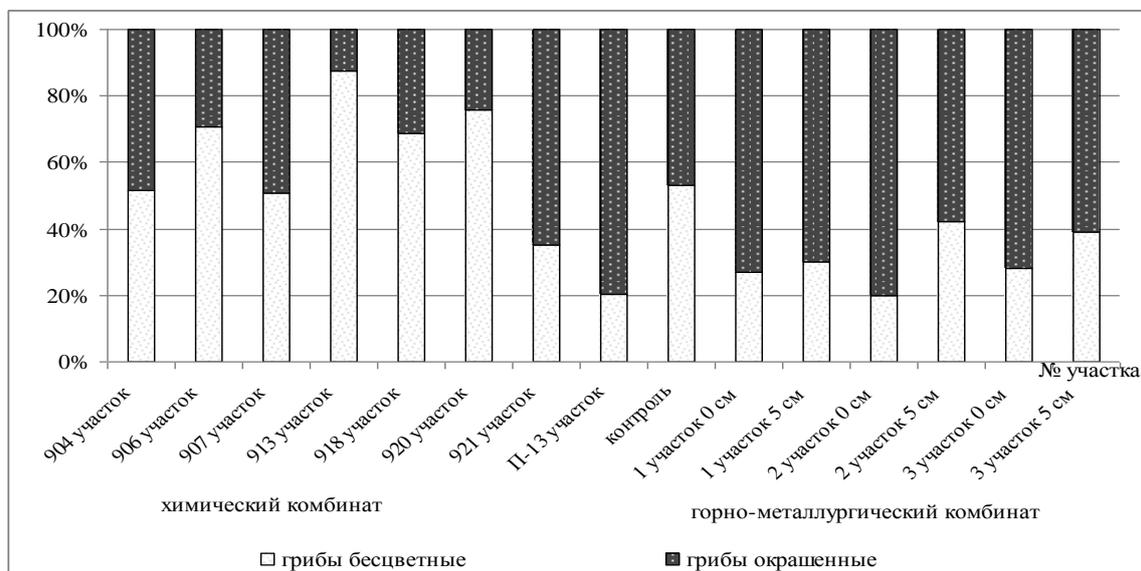


Рис. 9. Структура грибных комплексов в почвах в зоне действия промышленных предприятий

Анализируя структуру микокомплексов, установили наиболее загрязненные участки (№ 921 и П-13) в районе КЧПК. В почве этих участков меланизированные грибы составляли от 65 до 80% соответственно. Аналогичный анализ состояния микокомплексов в зоне действия ГМК также выявил доминирование окрашенных форм грибов на всех загрязненных участках.

Почвенные микромицеты в своем развитии постоянно связаны как с высшими растениями, которые являются для них основным источником пищи, так и с микрофототрофами, в число которых входят водоросли и цианобактерии. Более того, при формировании наземных разрастаний в виде пленок, корочек, макроскопических налетов фототрофов при «цветении» почвы именно микроскопическим грибам может принадлежать ведущая структурообразовательная функция [86]. Параллельное изучение интенсивности развития грибов и микрофототрофов имеет большое значение, так как известно, что деструкционная и созидательная деятельность почвенных микроорганизмов – сочетанные процессы, обеспечивающие устойчивость почв к антропогенным воздействиям [90, 91]. Поэтому преобладание той или иной группы микроорганизмов является косвенным свидетельством направленности микробиологических процессов в почве.

Процесс формирования поверхностных разрастаний «цветения» почвы можно инициировать в модельных опытах простым увлажнением исследуемой почвы. Микроскопический анализ «стекол обрастания» дает возможность определения количественных характеристик альго-цианомикологических комплексов с учетом как различных групп фототрофов, так и проведения дифференциации грибных комплексов на популяции с окрашенным и бесцветным мицелием, что является важным биодиагностическим признаком.

В серии опытов было проведено сравнение структурных особенностей альго-цианомикологических комплексов техногенно преобразованных почв и грунтов в зоне действия горно-металлургического комбината в г. Владикавказе (Республика Северная Осетия Алания) и зоне действия ТЭЦ-5 в г. Кирове.

Альго-цианомикологическая индикация, проведенная на примере почв и грунтов урбаноземов г. Кирова и г. Владикавказа, показала, что численность исследуемых групп микроорганизмов данных объектов очень различается. Однако изучение структуры микробных группировок выявляет сходные тенденции: цианофитизацию фототроф-

ных комплексов, меланизацию микокомплексов и доминирование фототрофного компонента в альгомикоценозах (рис. 10–12).

На каждой исследуемой территории было выделено по восемь площадок для пробоотбора почвы и проведения химического и альго-микологического анализа. В результате химического анализа установлено, что характерной особенностью исследуемых проб урбаноземов г. Владикавказа является их высокое загрязнение соединениями тяжелых металлов [205]. В большинстве проб установлено сверхнормативное содержание валовых и подвижных форм свинца (на двух участках до 102 и 310 ПДК), меди (до 51 ПДК), никеля, цинка (до 260 ПДК). В пробах почв в зоне действия ТЭЦ г. Кирова только на одной из восьми площадок отмечено высокое содержание поллютантов (бен[а]пирена и валового содержания цинка) [228].

Количественный учет микромицетов и фототрофных микроорганизмов при исследовании инициированных поверхностных разрастаний показал, что численность микромицетов на всех восьми исследованных участках урбаноземов г. Владикавказа практически одинакова и составляет 282–482 пропагулы/см<sup>2</sup> (в данном случае фрагменты мицелия) при гораздо большем диапазоне колебаний численности водорослей и цианобактерий (от 1200 до 14380 клеток/см<sup>2</sup>). При аналогичных исследованиях, проведенных с образцами почв, отобранными в зоне действия ТЭЦ в г. Кирове, было установлено, что численность грибов несколько выше и колеблется от 480 до 1400 пропагул/см<sup>2</sup>. Численность фототрофов также выше и колеблется от 2200 до 36900 клеток/см<sup>2</sup>. Эти показатели существенно ниже количественных показателей микологических комплексов почв фоновых территорий, где численность грибов составляет 2000–4000 пропагул/см<sup>2</sup>. В то же время угнетения фототрофов в техногенно преобразованных почвах по сравнению с фоновыми, где их численность не превышает 3600 клеток/см<sup>2</sup>, не наблюдается. Следовательно, антропогенное загрязнение почвы в первую очередь приводит к снижению общей численности микромицетов. Подобное явление неоднократно отмечали при изучении почвенных микромицетов, обитающих в загрязненных почвах в других регионах [128], что косвенным образом может быть связано с уменьшением поступления в почву растительного опада при угнетении развития высших растений.

Более информативными биоиндикационными критериями, указывающими на вероятность и уровень загрязнения почвы различными поллютантами, являются показатели структуры микробных комплек-

сов: микоценозов – по соотношению форм грибов с окрашенным и бесцветным мицелием (рис. 10), альгоценозов – по соотношению ЦБ и водорослей (рис. 11) и альго-микоконплексов – по соотношению численности грибов и фототрофов (рис. 12).

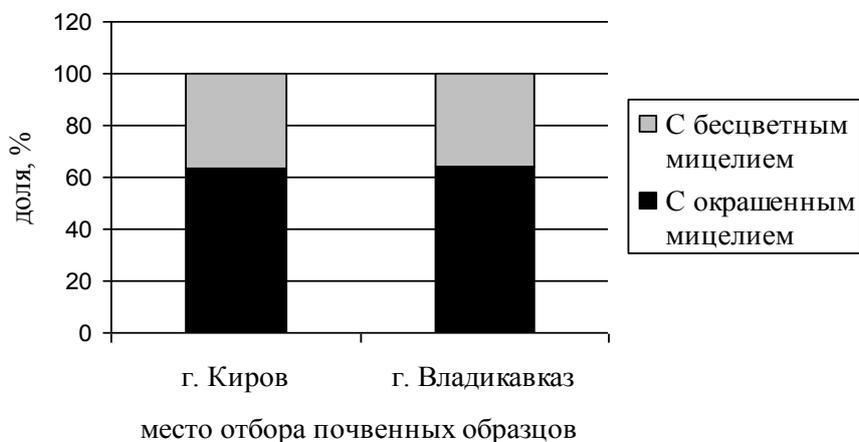


Рис. 10. Соотношение микромицетов с бесцветным и окрашенным мицелием в структуре грибных популяций

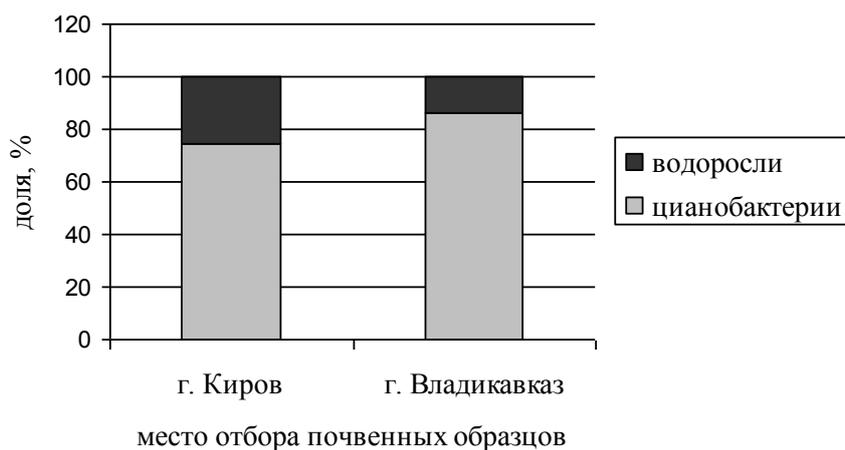


Рис. 11. Соотношение цианобактерий и водорослей в структуре фототрофных популяций

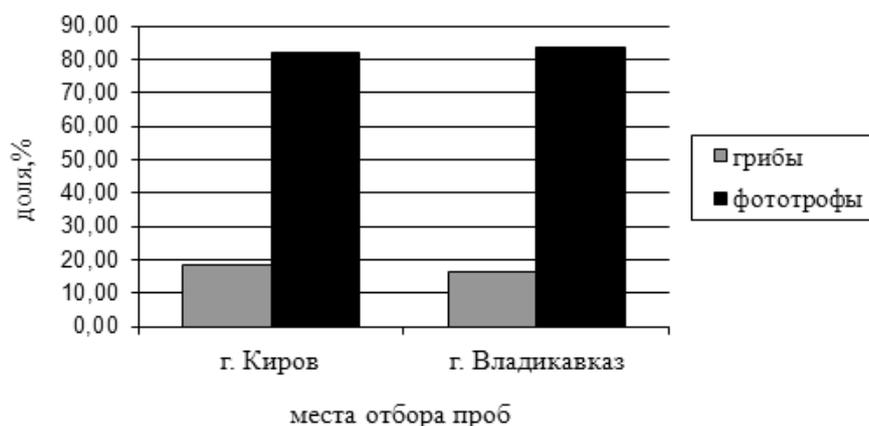


Рис. 12. Соотношение грибов и фототрофов в структуре альго-микологических комплексов

Признаком неблагополучия почвенных экосистем с позиций данных индикационных признаков является доминирование грибов с окрашенным мицелием (меланизация микоценозов), доминирование цианобактерий (цианофитизация фототрофных комплексов). Кроме того, сравнение показателей обилия фототрофов и грибов указывает на угнетение грибного компонента в структуре альго-микологических комплексов в почвах техногенно загрязненных территорий вне зависимости от их географического положения. В то же время в почвах фоновых территорий меланизированные грибы составляют не более 48% в микокомплексах, ЦБ – не более 36% в альгоценозах, фототрофы не более 44% в альго-микологических комплексах.

Таким образом, доля меланизированных грибов в структуре грибных комплексов доказывает высокий уровень антропогенной нагрузки на почву исследуемых территорий.

Искусственное внесение ТМ в почву агроценозов также приводит к меланизации микокомплексов. Так, в условиях полевого опыта с выращиванием различных сельскохозяйственных культур было проведено загрязнение почвы ионами меди в возрастающих концентрациях: 3, 150 и 300 мг/кг, что соответствует 1, 50 и 100 ПДК (табл. 17) [56]. Анализ структуры грибных популяций показывает, что по мере увеличения концентрации меди в почве происходит неуклонное возрастание доли меланизированных грибов с максимумом в вариантах под пшеницей (87,0%) и под горчицей (79,1%) с дозой меди 300 мг/кг, тогда как в контроле под всеми культурами подобные грибы составляли от 27,8 до 45,6% [88].

Таблица 17

Влияние возрастающих концентраций меди на структуру грибных популяций в почве под различными сельскохозяйственными культурами (%)

Вариант	Пшеница		Горчица		Горох	
	Мицелий					
	бесцветный	окрашенный	бесцветный	окрашенный	бесцветный	окрашенный
Контроль	65,2	34,8	54,4	45,6	72,2	27,8
Cu <sup>2+</sup> +3 мг/кг	39,5	60,5	43,0	57,0	33,7	66,3
Cu <sup>2+</sup> +150 мг/кг	13,0	87,0	25,9	74,1	33,5	66,5
Cu <sup>2+</sup> +300 мг/кг	26,0	74,0	20,9	79,1	31,4	68,6

Несмотря на то, что под всеми изучаемыми культурами возрастающие концентрации меди стимулируют размножение темноокрашенных грибов, характер зависимости между дозой меди и структурными показателями микромицетов различен (рис. 13). Выявлена практическая прямолинейная зависимость между концентрацией ионов меди и содержанием пигментированного мицелия под горчицей ( $r = 0,9124$ ).

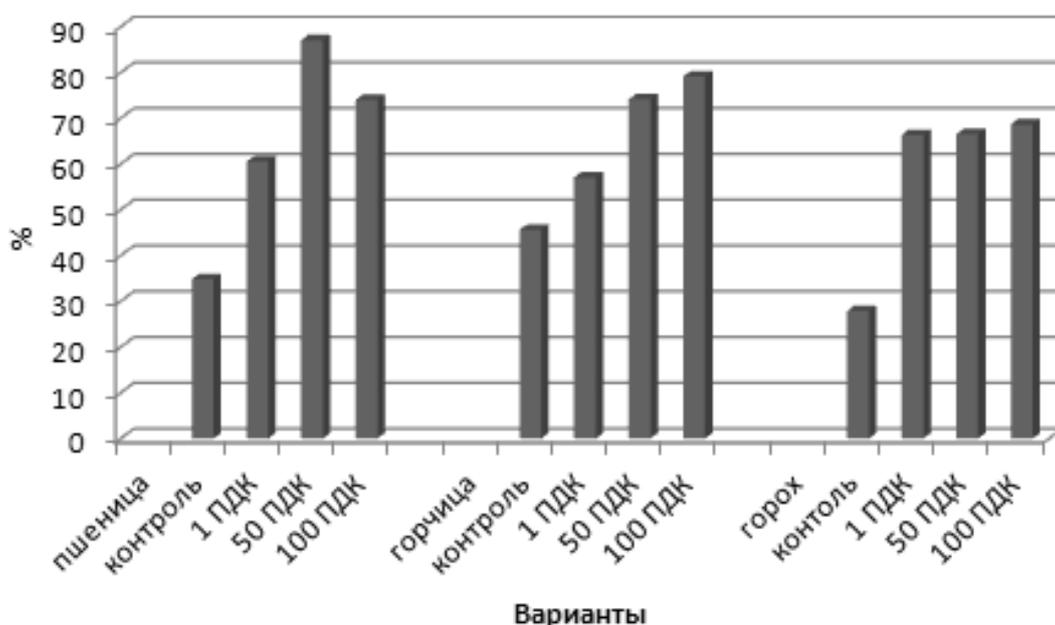


Рис. 13. Влияние возрастающих концентраций меди на развитие в почве грибов с меланизированным мицелием

В почве под горохом медь стимулирует размножение темноокрашенных грибов в одинаковой степени при любой ее концентрации ( $r = 0,5684$ ). В почве под пшеницей возрастающие концентрации меди также приводят к возрастанию в структуре популяций грибов с меланизированным мицелием, но в разной степени при разных дозах с максимумом при 50 ПДК.

Таким образом, для диагностики состояния почвы под различными сельскохозяйственными культурами при ее загрязнении ионами меди в возрастающих концентрациях объективным показателем является соотношение в структуре популяций микромицетов форм с бесцветным и окрашенным мицелием.

Универсальность критерия меланизации микоценозов была подтверждена в серии лабораторных и полевых опытов с пестицидами. Так, действие пестицида трефлан на почвенную микофлору в возрастающих концентрациях вызывает неуклонное возрастание в структуре популяций микромицетов доли темноокрашенных меланизирован-

ных форм, что явно свидетельствует о возрастании токсикоза почвы (табл. 18) [26–28, 80].

Таблица 18

Влияние пестицида трефлана на структуру популяций микромицетов (%)

Концентрация трефлана, г/л	Бесцветные формы	Окрашенные формы
0 (контроль)	50,6	49,4
0,000025	21,0	79,0
0,00025	12,5	87,5
0,0025	3,2	96,8

Таким образом, установлено, что в отсутствие высшего растения в замкнутой системе внесение в почву возрастающих концентраций трефлана приводит к нарастанию негативных тенденций, о чем свидетельствует возрастание в структуре популяций микромицетов с меланизированным мицелием.

В другой серии опытов определяли степень токсичности пестицидов старого и нового поколений, таких как симазин, ДДТ, гексахлорбензол, дивиденд стар, круйзер, гербитокс, пивот. В течение трех месяцев проводили серию модельных опытов с использованием дерново-подзолистой супесчаной почвы [26–28].

Влияние пестицидов на структуру популяций почвенных микромицетов можно проследить на рис. 14. В контроле наблюдается паритетное представительство микромицетов с бесцветным и окрашенным мицелием. Под воздействием пестицидов резко снижается содержание микромицетов с неокрашенным мицелием и возрастает количество с окрашенным.

Так, наиболее токсичным является ДДТ, под его воздействием количество микромицетов с бесцветным мицелием минимально по сравнению с другими пестицидами и составляет всего 6,7%. Наименее токсичен гербитокс. В этом варианте доля популяций бесцветных микромицетов составляет 34,4% от общего количества грибов. Этот показатель наиболее близок к контролю.

Таким образом, преобладание окрашенных форм в структуре популяций микромицетов в вариантах с внесением большинства испытуемых пестицидов можно считать важным биоиндикаторным признаком на токсичность пестицидов даже через три месяца их экспозиции в почве.

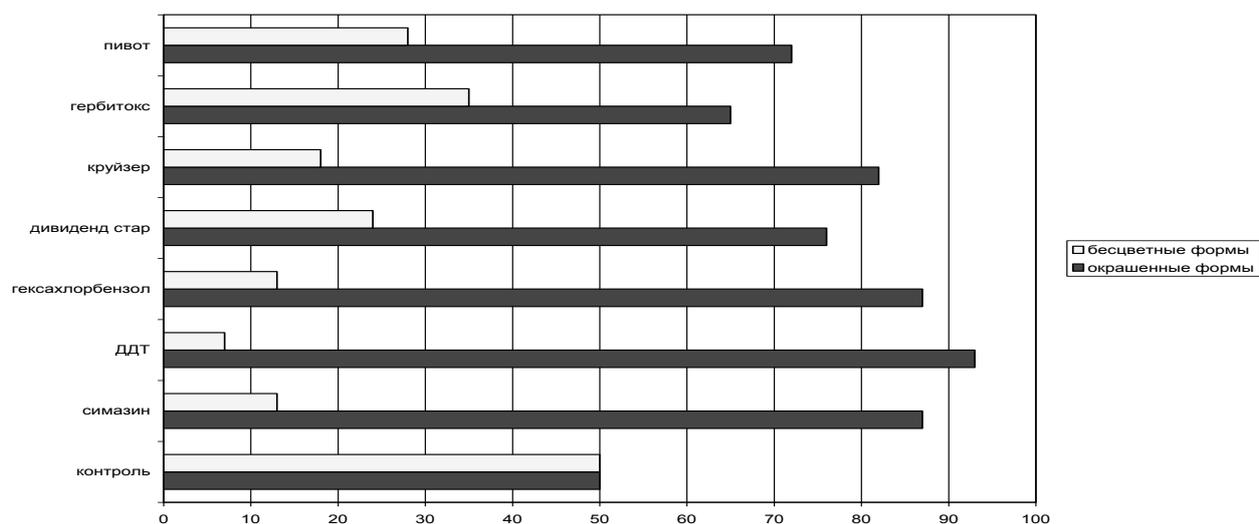


Рис. 14. Структура популяций микромицетов в почве при внесении пестицидов, %

Микологический мониторинг в полевых условиях был проведен для диагностики состояния почв в районе Кильмезского захоронения ядохимикатов в Кировской области [26–28]. Отборы почвенных образцов проведены с площадок мониторинга (ПМ), на которых в течение ряда лет проводится химический анализ почвы, а также определение видового и количественного состава фототрофных МО.

Определение степени загрязнения почвы по соотношению микромицетов с окрашенным и бесцветным мицелием выявило минимальный уровень загрязнения для фоновых площадок, а максимальный – для ПМ 4К, 5К, 6К и 7К, где доля окрашенных форм составляет свыше 70% (табл. 19) [28, 125].

Таблица 19

Особенности развития микокомплексов на площадках мониторинга Кильмезского захоронения ядохимикатов

Площадки мониторинга	Длина мицелия, м/г			Структура популяции микромицетов, %	
	бесцветного	окрашенного	всего	с бесцветным мицелием	с окрашенным мицелием
1К	55,3±2,2	81,1±19,2	136,4±21,4	40,5	59,5
5К	33,3±3,1	121,6±11,4	154,9±14,8	21,5	<b>78,5</b>
8К(фон)	298,6±9,6	196,0±33,0	494,2±42,6	60,4	39,6
4К	94,7±19,2	222,1±10,9	316,8±30,1	29,9	<b>70,1</b>
6К	17,6±1,1	69,6±15,0	87,2±16,1	20,2	<b>79,8</b>
7К	19,4±2,3	52,2±2,5	71,6±4,8	27,1	<b>72,9</b>
3К	71,4±3,5	127,7±20,0	199,1±23,5	35,9	64,1

Доказательством высокой чувствительности почвенных микромицетов к действию поллютантов явилась серия опытов, в ходе которых в почву парковой зоны под посевом газонных трав вносили различные вещества: азид натрия, твердые бытовые отходы (ТБО), послеспиртовую зерновую барду [14, 85]. Отбор почвенных образцов на микологический анализ проводили через четыре недели после внесения поллютантов. При снятии опыта было зарегистрировано, что угнетающее действие на развитие мицелия оказывает азид натрия – соединение, которое в настоящее время проходит испытание в качестве фунгицида. При этом происходит существенное изменение структуры грибной популяции в сторону возрастания количества меланизированных форм до 85,3% против 26,7% в контроле (табл. 20). Внесение ТБО и барды послужило, вероятно, дополнительным источником питательных веществ для микромицетов, что привело к увеличению суммарной длины мицелия, особенно существенному при внесении барды. Но если в случае внесения барды структура грибных популяций практически такая же, как в контроле, то при внесении ТБО, аналогично внесению азид натрия, наблюдается рост представительства меланизированных микромицетов в грибных комплексах. Возможно, это обусловлено составом ТБО, включающих такие соединения, как полиамиды, полипропилен, поливинилхлорид и другие, которые в ходе микробиологической деструкции в почве могут выделять различные токсичные вещества.

Таблица 20

Влияние различных соединений на структуру почвенных микологических комплексов

Вариант	Длина мицелия, м/г	Структура популяций микромицетов, %	
		Мицелий бесцветный	Мицелий окрашенный
Контроль	27,5±0,5	73,3	26,7
Азид натрия 0,3%	18,0±1,3	14,7	85,3
ТБО	33,6±3,0	36,3	63,7
Барда	40,0±3,5	69,4	30,6

В целом результаты наших исследований еще раз подтверждают универсальность использования такого показателя состояния почвенных микоценозов, как структура их популяций по соотношению форм с окрашенным и бесцветным мицелием, для диагностики химического загрязнения почвы.

### 1.1.5. Сукцессионный анализ

Пространственно-временное существование ФМС неизбежно приводит к различному характеру сосуществования фототрофных популяций и связанных с ними гетеротрофных партнеров в зависимости от конкретных условий. При этом динамический характер изменения количественных показателей ФМС (численности клеток и биомассы) сопровождается их качественными перестройками – сукцессиями. Триггерным фактором в ходе сукцессий при наличии одного и того же видового пула фототрофов в почве могут быть как динамика биогенных и токсических элементов, так и связи – прямые и опосредованные – с другими компонентами сообщества. Вследствие этого направленность альгоценозогенеза на поверхности почвы детерминирована как комплексом экзогенных воздействий, так и совокупностью эндогенных факторов, господствующих внутри ФМС. К последним относятся связи между отдельными видами фототрофов, между их популяциями, а также разнообразные взаимодействия фототрофов с гетеротрофным комплексом ФМС – бактериями, грибами, беспозвоночными. Вероятно, динамика этих взаимодействий определяет ход аутогенной сукцессии ФМС, а совокупность внешних и внутренних факторов становится причиной сезонных сукцессий [73, 123, 125].

К настоящему времени отсутствует целостное представление о механизме альго-цианобактериальной сукцессии как в почве, так и на ее поверхности. В то же время накоплен достаточно обширный материал, ярко характеризующий отдельные детали этого процесса. Выбрав в качестве образца классические положения общей экологии, подойдем к рассмотрению этой проблемы с изучения взаимодействий внутри ФМС на уровне межвидовых взаимоотношений фототрофов, а также сопряженности в развитии фототрофного и гетеротрофного комплексов при «цветении» почвы. Известно, что сообщества, образующиеся при «цветении» почвы, представлены организмами разных трофических уровней. В силу этого они пронизаны многочисленными биотическими связями, как трофическими, так и биохимическими. Чем выше плотность фототрофных популяций (а в пленках «цветения» она может достигать десятков миллионов клеток на  $1 \text{ см}^2$ ), тем более напряженными становятся эти связи. Существуют разнообразные методы выявления связей разных уровней в сообществах, конкретная методика которых зависит от целей исследования и групп организмов, которые анализируются в той или иной ситуации. Наличие

постоянно повторяющихся комплексов фототрофов с постоянными доминантами и постоянно сопутствующей сапротрофной микрофлорой заставляет предполагать, что взаимодействия на уровне фототрофов определяют во многих чертах стабильность формирующегося сообщества, хотя сила и прочность биотических связей в альго-цианобактериальных ценозах легко нарушаются внешним вмешательством [73, 123, 125].

Под сукцессией наземных ФМС можно понимать их последовательную смену, в ходе которой возникающие новые сообщества отличаются другим видовым составом, разными количественными соотношениями фототрофных группировок и разными доминантами. Ежегодно повторяющееся заселение поверхности перепаханной почвы в агроценозах водорослями и цианобактериями из имеющегося в почве пула клеток – пример типичной вторичной сукцессии. В ходе ее происходит временное развитие альго-цианобактериального ценоза, т. е. сезонная сукцессия. Типичный ход такой сукцессии легко моделируется простым увлажнением исследуемой почвы и выдерживанием ее на свету [73, 123, 125].

Совокупность примененных нами методов позволила выделить в развитии сообществ при «цветении» почвы четыре сериальные стадии [73]:

«1. Независимое развитие видов друг от друга, фактический нейтраллизм, что наблюдается на обнаженной, увлажненной почве, представляющей для данной группы фототрофов своеобразный экологический вакуум. Становление наземного сообщества происходит за счет внутрпочвенного пула клеток. Интенсивность и скорость формирования ФМС определяется и прогнозируется величиной этого пула. Чем больше запас клеток в почве, тем с большей скоростью происходит нарастание плотности клеток в наземных ФМС. При искусственном разрушении пленок и инициации “цветения” такой почвы в модельных опытах его можно наблюдать уже через сутки.

2. По мере размножения клеток и их пространственного сближения сначала проявляется эффект взаимного стимулирования группировок, что может быть связано с рядом причин: предоставление “убежища” для одноклеточных форм, выделение экзометаболических, содержащих как питательные вещества, так и стимуляторы роста. Это стадия высокой сопряженности в развитии группировок и видов.

3. С возрастанием интенсивности физических и метаболических (биохимических) контактов водорослей и ЦБ друг с другом растет

напряженность конкурентных отношений. Выделяемые организмами метаболиты практически мгновенно действуют на партнеров. Поэтому сообщество с высокой сопряженностью видов и группировок недолговечно. Происходит дифференциация экологических ниш группировок, что обеспечивает становление и стабилизацию сообщества на определенном уровне видового насыщения. Наблюдаемая на 3-й стадии структура ФМС соответствует модели геометрического распределения обилия видов.

4. Верхний предел развития популяций может определяться перекрыванием экологических ниш вследствие дальнейшего нарастания биомассы сообщества за счет абсолютного доминирования одного или немногих видов. Происходит снижение видового разнообразия и, вероятно, вследствие этого уменьшение прочности сообщества, которое достигает своей климаксовой стадии и разрушается. На его месте возникает новое, с новыми доминантами. Происходят повторяющиеся сезонные сукцессии, в ходе которых компоненты наземных ФМС распределены в пространстве и во времени с определенной закономерностью».

Такая временная гетерогенность способствует периодическому процветанию в различные сроки различных групп водорослей и ЦБ за счет изменения их конкурентных преимуществ. Эти преимущества возникают в ходе неравномерного потребления из почвы элементов минерального питания высшим растением, что приводит в конечном итоге к осенней вспышке размножения ЦБ, не чувствительных к нехватке азота. Применяемые минеральные и органические удобрения меняют баланс питательных веществ в почве и изменяют циклический ход сезонной сукцессии [73, 125, 167].

Хотя в природных условиях ход сукцессий возобновляется ежегодно, любой из этапов может быть сжат, растянут или ликвидирован совсем при действии возбуждающих факторов, к которым в экосистемах относятся различные агрохимикаты и поллютанты.

Серии проведенных модельных опытов, в которых в качестве токсикантов рассматривались повышенные концентрации мышьяка, позволяют выявить особенности действия загрязняющих веществ на функционирование микробных сообществ почвы на различных стадиях сукцессии [68, 73, 123, 125]. Исследования проводили на образцах лесных почв, отобранных в начале 2000-х гг. в окрестностях арсенала химического оружия в Оричевском районе Кировской области за несколько лет до строительства объекта по уничтожению химиче-

ского оружия. Отобранные образцы, маркированные как А-0, А-7, А-2 и А-1, отличались различным содержанием ионов мышьяка: 0,1; 21,0; 35,0 и 69,0 мг/кг соответственно.

Показано, что повышенные концентрации мышьяка в почве стимулируют размножение одноклеточных зеленых водорослей, сокращают время их генерации, увеличивают удельную скорость роста, меняют характер сукцессии.

Одноклеточные зеленые водоросли являются наиболее стабильным компонентом ФМС на всех стадиях сукцессии. За 107 суток экспозиции было проведено 14-кратное определение количественных показателей альгофлоры. При этом минимальная численность водорослей (от 300 до 3500 клеток/см<sup>2</sup>) с абсолютным доминированием р. *Coccomyxa* наблюдалась в контрольном варианте А-0, что является вполне характерной особенностью для почв лесных биогеоценозов.

Накопление As в почве полностью меняет характер динамики Chlorophyta и видовую структуру ФМС. Происходит постоянное возрастание численности и биомассы клеток зеленых водорослей с абсолютным доминированием видов *Chlamydomonas*, достигая к концу 3-го месяца инкубирования макроскопических разрастаний («цветение» почвы) с плотностью около 200 тыс. клеток/см<sup>2</sup> (табл. 21). Наиболее разнообразна микрофлора и микрофауна в варианте с максимальным содержанием мышьяка (А-1, 69,0 мг/кг, 35 ПДК).

Стартовая экспансия фототрофов на поверхности почвы после ее увлажнения начинается раньше, чем в других вариантах, достигая на 4-е сутки плотности клеток свыше 1000/см<sup>2</sup>.

Среди доминантов отмечены *Chlorohytrium paradoxum*, виды *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Chlorococcum*, *Coccomyxa*. Нитчатые зеленые (*Klebsormidium flaccidum*) появляются на 20-е сутки, на 60-е сутки начинают размножаться ЦБ (преимущественно *Phormidium autumnale*). В цианобактериальных пленках плотность клеток к концу экспозиции достигает 0,5 млн/см<sup>2</sup>. Способность ЦБ размножаться подвижными гормогониями обеспечивает быструю колонизацию субстрата. По мере освоения пространства нити ЦБ становятся экологическими нишами, в которых происходит массовое размножение зеленых водорослей. Ранее было показано, что при формировании «цветения» почвы проявляется высокий уровень сопряженности в развитии зеленых водорослей и цианобактерий с коэффициентом ассоциативности Пирсона  $r_4 = 0,542-0,680$  [73]. В климаксной стадии текстура сообщества напоминает лишайниковоподобную «псевдо-

ткань», в формировании которой, помимо цианобактерий и водорослей, принимают участие гифы грибов. Древность происхождения ЦБ, способность выживать в экстремальных условиях и возможность захвата разнообразных экологических ниш в современной биосфере часто приводит к цианобактериальной экспансии там, где нерегулируемое вмешательство человека нарушает нормальное функционирование экосистем.

Таким образом, кардинальное изменение хода альго-цианобактериальной сукцессии, происходящее под влиянием накопления в почве мышьяка, которое характеризуется массовым размножением ЦБ в лесной почве до состояния её «цветения», можно рассматривать как один из биоиндикационных признаков химического загрязнения почвы.

Разница в химическом статусе почвы в разных вариантах сказывается не только на развитии водорослей и ЦБ, существенны различия в формировании гетеротрофных микробных комплексов (табл. 21).

Таблица 21

Влияние химического загрязнения почвы на структуру микробоценозов на 107-е сутки сукцессии (на 1 см<sup>2</sup> почвы)

Организмы, показатели	Образцы			
	А-0	А-7	А-2	А-1
1	2	3	4	5
Одноклеточные зеленые водоросли				
Численность, клеток	4260	567000	246000	240600
Биомасса, мкг	1,308	228	96	19,2
Нитчатые зеленые водоросли				
Численность, клеток	0	0	0	74706
Биомасса, мкг	0	0	0	8,4
Цианобактерии				
Численность, клеток	0	0	0	505000
Биомасса, мкг	0	0	0	30,0
Грибы				
Численность спор	894636	275892	55980	346848
Биомасса, мкг	103	31	17	879
Длина мицелия, см	127,5	253,0	3,0	1009,0
Биомасса мицелия, мкг	312	204	36	86
Актиномицеты				
Длина мицелия, см	55,0	26,7	0,7	0,2
Биомасса, мкг	7,0	6,5	6,5	0,3

1	2	3	4	5
Простейшие				
Численность особей	12000	4992	2004	12996
Биомасса, мкг	8,4	1,4	0,07	8,4
Коловратки				
Численность особей	0	0	0	3000
Биомасса, мкг	0	0	0	14,4
Нематоды				
Численность, особи	0	0	0	2004

В ФМС 107-суточного возраста определялась численность и биомасса микрофототрофов, грибов, актиномицетов, простейших, коловраток и нематод. При минимальной численности водорослей в контрольном варианте А-0 в максимальном количестве развиваются микромицеты. При этом биомасса спор в структуре грибной популяции составляет более 33% от биомассы мицелия. Активны и многочисленны по сравнению с другими вариантами простейшие (инфузории). В целом трофическая пирамида численности и биомассы оказывается перевернутой. В ней микрофотосинтетикам принадлежит незначительная роль, а наибольший вклад в синтез биомассы вносят грибы, т. е. деструкторы, биомасса которых (мицелия и спор) почти в 400 раз превышает биомассу водорослей. В варианте А-7 суммарная биомасса консументов и редуцентов находится на уровне биомассы водорослей. Наибольшее разнообразие микрофлоры и микрофауны представлено в варианте А-1. У грибов в массе спор легко идентифицируются макроконидии фузариума. Среди беспозвоночных в ходе всей сукцессии большую активность проявляют нематоды. Сочетание в почве фузариев и нематод считается одним из показателей ее фитотоксичности. Еще одной особенностью данного варианта является преобладание суммарной массы гетеротрофов над биомассой фототрофов. Этот феномен обычен для микрофототрофов водоемов и почвы, так как вследствие высокой скорости продукционного процесса, оборачиваемости биомассы водорослей и ЦБ их одномоментные показатели могут быть в сотни раз меньше их продукции, но обеспечивают массовое развитие гетеротрофных партнеров. Размножение нитчатых водорослей и ЦБ в варианте А-1 обеспечивает более активную колонизацию почвы, при этом вместе с передвижением нитей происходит передвижение других групп организмов, образующих целые

скопления на поверхности нитей и в их слизи, что приводит к возникновению новых центров ФМС.

Дальнейшая расшифровка структуры и механизмов работы микробных сообществ химически загрязненных почв позволит подойти к вопросу об экологической оценке адаптационных возможностей почвы.

На ход аутогенных сукцессий в фототрофных микробных сообществах влияет и такой чрезвычайно опасный и очень распространенный поллютант, как свинец [224]. Интересен ход альго-микологических сукцессий, протекающих в дерново-глеевой почве под влиянием свинца (табл. 22). Так, в ходе сукцессии происходит неуклонное снижение длины грибного мицелия во всех вариантах. При этом на всех этапах сукцессии максимальной остается длина мицелия при 6000 мг/кг Pb. Вероятно, редукция грибного мицелия обусловлена отсутствием притока свежего органического вещества, необходимого для развития микромицетов, или возникновением антагонистических отношений с активно размножающимися фототрофами. Численность водорослей в почве с исходным содержанием свинца (20,73 мг/кг) постоянно возрастает, увеличиваясь за две недели с 25 клеток/см<sup>2</sup> до 1083, т. е. более чем в 40 раз. При содержании Pb 60 мг/кг пик развития водорослей и ЦБ совпадает с 11-ми сутками сукцессии. При увеличении содержания свинца до 600 мг/кг численность водорослей постоянно возрастает, а ЦБ появляются только на 18-е сутки в максимальном для данного опыта количестве (свыше 4000 клеток/см<sup>2</sup>). Максимум развития водорослей при максимальной концентрации свинца (600 мг/кг) наблюдается на 11-е сутки.

Таблица 22

Изменение хода микробной сукцессии в дерново-глеевой почве под влиянием свинца

Pb, мг/кг	Длина мицелия, мм/см <sup>2</sup> , сутки с начала опыта			Численность фототрофов, клеток/см <sup>2</sup> , сутки с начала опыта		
	5	11	18	5	11	18
20,73	65,5	38,4	14,6	25	587	1083
60	19,0	14,8	11,8	19	325/362*	67/150*
600	37,8	40,0	6,7	19	75	141/4033*
6000	912,0	213,3	53,9	12	112	15

Примечание.\* В знаменателе – численность цианобактерий.

Следовательно, в дерново-глеевой почве наиболее благоприятные условия для протекания сукцессии складываются для фототроф-

ных микроорганизмов. Именно фототрофы, в первую очередь цианобактерии, интересуют нас в качестве биосорбентов свинца. На сегодняшний день набор стратегий для удаления Pb из почвы ограничен. Полагают, что детоксикацию среды можно достигнуть при использовании соответствующих микроорганизмов, способных сделать Pb бионедоступным [294]. Первой ступенью подобных методов биоочистки становится выявление штаммов бактерий, способных модифицировать загрязнитель.

### 1.1.6. Выявление специфических микробных комплексов

Загрязнение провоцирует массовое размножение в почве опасных фитопатогенных грибов р. *Fusarium* (до 200 тыс. макроконидий/см<sup>2</sup>), сопровождающееся повышенной активностью нематод (до 200 экземпляров/см<sup>2</sup>). Фузариозно-нематодный комплекс обладает большой потенциальной опасностью для высших растений, создавая угрозу их двойного поражения [83, 224].

Исследования, проведенные нами в 2003–2004 гг., показали, что фузариозная контаминация почвы характерна не только для агроценозов, но и для ксеноценозов, под которыми в данном случае мы понимаем почвы с повышенным содержанием таких ксенобиотиков, как As и Pb [68, 83, 224]. Так, в почве с концентрацией As, превышающей ПДК в 35 раз, численность макроконидий *Fusarium* sp. достигает до 40000/г почвы.

Проверка данной почвы на фитотоксичность с использованием в качестве тест-объектов семян различных сельскохозяйственных культур показала, что гибель проростков ржи составила 20%, пшеницы – 50%, а ячменя – 32%, льна – 13%, а патоккомплекс, помимо *Fusarium* sp., включал представителей круглых червей – нематод семейства Rhabditidae, отряда Rhabditida. Подобный фузариозно-нематодный комплекс выделен также из почв с повышенным содержанием Pb. Микроскопирование невсхожих семян показало, что они полностью были покрыты мощным сетчатым чехлом, состоящим из мицелия и спор гриба и многочисленных нематод. Полный лизис пораженных семян происходил через 5–7 суток. Вероятно, имеются механизмы, объединяющие нематод и фузарию в комплексы и в отсутствие высших растений. В этот период фузарию живут как сапрофиты, а нематоды как микофаги. Появление семян провоцирует биотрофию гриба. Нематоды при этом могут играть роль инокуляторов при фузариоз-

ном заражении растений. Скорее всего в подобных случаях происходит наложение химического токсикоза почвы на биологический. Гибель растений сопровождается одновременным массовым размножением фитопатогенов, увеличивая зараженность почвы. Следовательно, проблема антифузариозной детоксикации актуальна не только для агрогенных, но и для техногенных почв.

Другой характерной особенностью загрязненных почв является способность видов плесневых грибов аспергилла и пеницилла переходить к половому размножению с массовым образованием аскоспор, что характерно для экстремальных условий существования данных микромицетов.

Следовательно, выявление в почвах массовых фузариозно-нематодных комплексов и многочисленных аскоспор однозначно указывает на химический токсикоз почвы.

## **1.2. Актиномицеты в оценке экологического состояния наземных экосистем**

Актиномицеты – спорообразующие, грамположительные бактерии, способные к формированию ветвящегося мицелия. Морфологические признаки и тип спорогенеза, наряду с хемотаксономическими и геносистематическими признаками, служат основой для подразделения порядка Actinomycetales на группы и роды (более 100 родов) [357]. Среди прокариот актиномицеты вследствие относительно простой родовой и видовой идентификации могут наиболее успешно использоваться в качестве модельной группы в оценке экологического состояния почвы.

Нарушения в сообществах актиномицетов выявляются, как правило, на основе определения синэкологических показателей, характеризующих соотношение видов в комплексе, который выделяется на определенной питательной среде. Комплекс актиномицетов, наиболее часто используемый для сравнительных оценок на уровне отдельных родов, выделяют на среде с пропионатом натрия, а видовую структуру рода *Streptomyces* определяют на казеин-глицериновом агаре (КГА) [29, 102, 247]. На основе показателей временной и пространственной частот встречаемости комплекс почвенных актиномицетов разделяют на следующие группы видов: типичные доминирующие (пространственная и временная частоты встречаемости  $\geq 90\%$ ), типичные частые

(оба показателя  $\geq 40\%$ ), типичные редкие ( $< 40$  и  $> 60\%$  соответственно) и случайные (оба показателя  $< 40\%$ ).

Антропогенное вмешательство в экосистемы приводит к уменьшению или увеличению числа видов или частоты их встречаемости – следовательно, к изменениям системы взаимоотношений в биоценозе. Поэтому структурные параметры актиномицетного комплекса как модельной группы микробного сообщества могут служить тестом на нарушение почвенных условий в результате изменения среды под воздействием техногенных факторов.

Таксономическая структура актиномицетных комплексов, определяемая числом и составом доминирующих родов, соотношением типичных и случайных родов в комплексе, является специфичной для тех или иных ненарушенных почв определенного генезиса. Так, например, структура актиномицетных комплексов осушенных торфяных почв низинного типа в подзоне южной тайги европейского Северо-Востока значительно отличается от структуры комплексов дерново-подзолистых почв, расположенных на прилегающем к торфянику водоразделе, и больше напоминает структуру актиномицетных комплексов черноземов [103].

Сравнение полученных результатов по актиномицетам в лесных биомах европейской части России с данными исследования актиномицетов в Национальном лесном парке Манчжурии Jinguetan показало следующее. В условиях Манчжурской подобласти Восточноазиатской ботанико-географической области численность почвенных стрептомицетов в подстилке и почве искусственного хвойно-широколиственного леса (Cambisols) была сопоставима с аналогичными показателями, зафиксированными для хвойных и лиственных биомов в Окском и Центральном лесном государственных лесных заповедниках [104]. Основным местом сосредоточения актиномицетов в исследованных лесных биомах являлись подстилки, тогда как верхние горизонты бурой почвы уступали им по количественной представленности мицелиальных прокариот. Под пологом дуба монгольского (*Quercus mongolica*) численность актиномицетов ( $2,7-11,7 \times 10^5$  КОЕ/г) оказалась в 1,1–1,5 раза выше, чем в почве и подстилке под пологом корейского кедра (*Pinus koraiensis*) ( $3,1-7,4 \times 10^5$  КОЕ/г). Доля актиномицетов в почвенном прокариотном комплексе, под кедром (66–70%), напротив, была выше, чем под дубом (24–43%). Различались между собой по доле участию актиномицетов в прокариотном

комплексе и подстилки сравниваемых древостоев: 26–44% под кроной хвойника и 9–28% под лиственной кроной (табл. 23).

Таблица 23

Численность и структура комплексов актиномицетов  
в Национальном лесном парке Jinguuetan

Показатель	Субстраты под кронами			
	<i>Pinus koraiensis</i>		<i>Quercus mongolica</i>	
	Подстилка	Почва	Подстилка	Почва
Общая численность прокариот, вырастающих на КГА, тыс. КОЕ/г	738	311	1170	270
Доля актиномицетов в прокариотном комплексе, %	26–44	66–70	9–28	24–43
Количество секций и серий рода <i>Streptomyces</i>	8	3	6	1
Количество родов, выделяемых на среде с пропионатом натрия	5	5	5	3
Относительное обилие в комплексе представителей родов, %:				
<i>Streptomyces</i>	61–90	76–77	69–77	71–95
<i>Micromonospora</i>	2–32	6–23	20–22	3–28
олигоспоровые формы	2–6	0–8	0–9	0
<i>Streptosporangium</i>	0–2	0–9	0–1	0
<i>Streptoverticillium</i>	0–0,7	0–1	0–2	0–2

Различная степень обогащенности пропагулами актиномицетов лесных почв по сравнению с подстилкой обусловлена разными свойствами исследованных почв. Так, опад в дубовой роще обильнее по сравнению с кедровником, поэтому максимум численности мицелиальных прокариот отмечен в подстилке под пологом дуба монгольского. Отличия могут быть обусловлены различной представленностью долей танинов, терпенов и других растительных фенолов с выраженным бактерицидным действием в опаде дуба и кедра [101].

Актиномицетные комплексы исследованных почв и подстилок, выделяемые на среде с пропионатом натрия, включали представителей родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium*, *Streptoverticillium* и олигоспоровые формы. Долевое участие в комплексах стрептомицетов (61–95%) многократно превосходило вклад других представителей мицелиальных прокариот, среди которых микромоноспоры (2–32%) выделялись более высоким относительным

обилием в сравнении с минорными компонентами, к числу которых были отнесены стрептоспорангиумы, стрептовертициллы и олигоспоровые формы (0–9%). По частоте встречаемости в почвах парцелл кедра и дуба также доминировали стрептомицеты, тогда как в подстилках, помимо стрептомицетов (100%), с высокой частотой встречались еще и микромоноспоры (80–100%) (рис. 15), что не являлось характерным для лесных биомов европейской части континента [102].

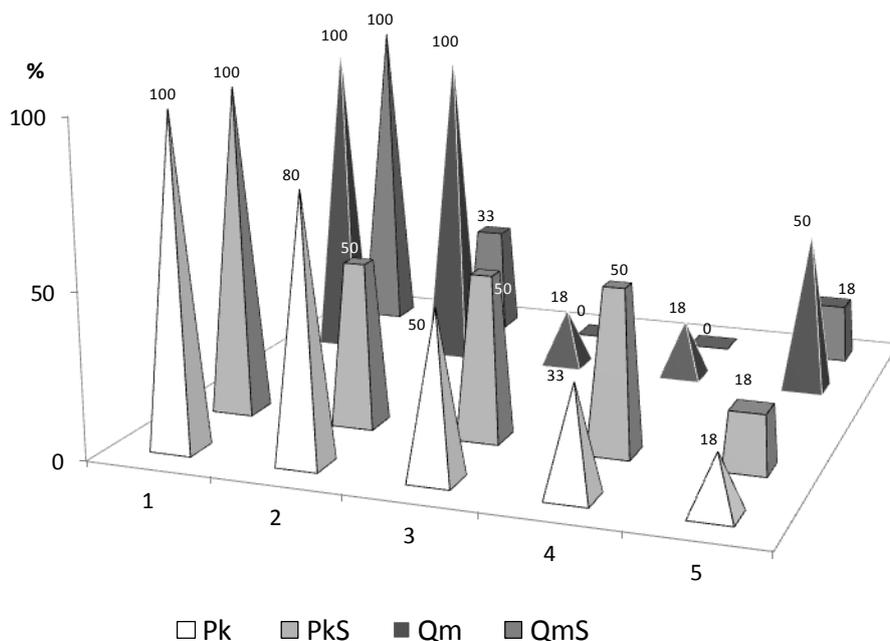


Рис. 15. Частота встречаемости в почвах и подстилках Национального лесного парка Jingyuetan представителей родов актиномицетов: 1 – *Streptomyces*, 2 – *Micromonospora*, 3 – олигоспоровые актиномицеты, 4 – *Streptosporangium*, 5 – *Streptoverticillium*. Pk и PkS – соответственно подстилка и почва в парцелле *Pinus koraiensis*, Qm и QmS – соответственно подстилка и почва в парцелле *Quercus mongolica*

В видовой структуре комплекса стрептомицетов доминировали по частоте встречаемости в парцеллах *Pinus koraiensis* представители секций и серий Imperfectus, Cinereus Achromogenes и Cinereus Aureus, Albus Albus (по 83% каждая), а в парцеллах *Quercus mongolica* – только виды Cinereus Achromogenes (100%) (рис. 16).

По относительному обилию в почвенных субстратах, связанных с *Pinus koraiensis*, преобладали виды Imperfectus (до 56% в почве); в субстратах, связанных с *Quercus mongolica*, – виды Cinereus Achromogenes (до 39% в почве). В числе минорных представителей стрептомицетов в почвенном комплексе лесного парка Jingyuetan отмечены виды, принадлежащие к секциям и сериям Cinereus Violaceus, Roseus, Helvolo-Flavus Helvolus.

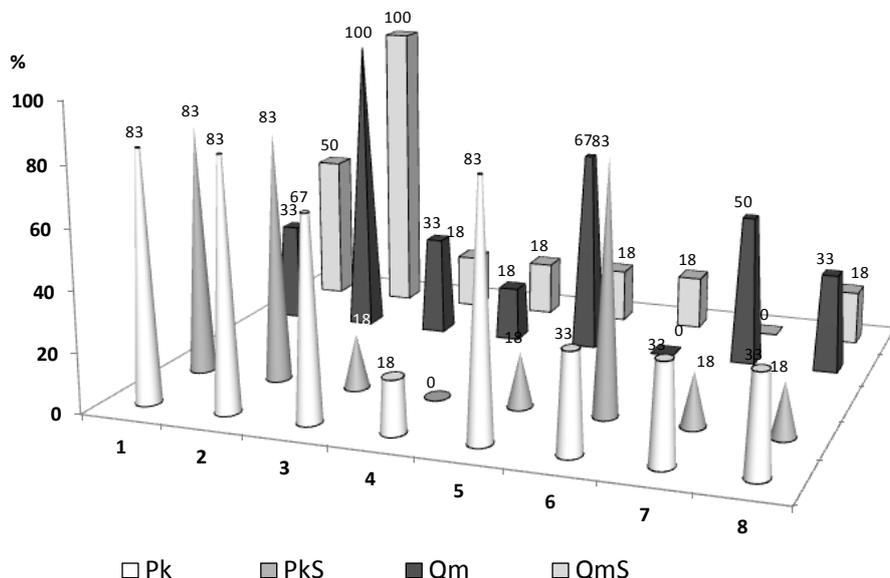


Рис. 16. Частота встречаемости в почвах и подстилках Национального лесного парка Jinguetao видов стрептомицетов секций и серий: 1 – Imperfektus, 2 – Cinereus Achromogenes, 3 – Cinereus Chromogenes, 4 – Cinereus Violaceus, 5 – Cinereus Aureus, 6 – Albus Albus, 7 – Helvolo-vlavus Helvolus, 8 – Roseus Lavendulae-roseus. Pk и PkS – соответственно подстилка и почва в парцелле *Pinus koraiensis*, Qm и QmS – соответственно подстилка и почва в парцелле *Quercus mongolica*

Комплексы стрептомицетов в исследованных субстратах отличались высокой специфичностью: в их составе очень мало или вовсе нет общих видов. К числу видов стрептомицетов, обнаруженных более чем в одном местообитании, относятся *S. wedmorensis*; *S. candidus* и *S. filamentosus*, широко встречающиеся также в почвах европейской части континента.

Полученные данные указывают на отсутствие резких различий по составу, численности и структуре доминирования между комплексами актиномицетов в хвойно-широколиственном искусственном лесном массиве Манчжурии и в лесных биоценозах центральной и северо-восточной частей Восточно-Европейской равнины.

Значительное сходство комплексов почвенных актиномицетов на пространственно разобщенных территориях можно объяснить, с одной стороны, смещением широтной зональности и совмещением признаков неморальной и бореальной растительности в условиях северо-востока Китая, обусловленных влиянием муссонного типа климата, особенностями которого являются жаркое и богатое атмосферными осадками лето и холодная малоснежная зима. Отсутствие явных различий, с другой стороны, может быть обусловлено сходным характером растительных полимеров (целлюлоза, ксиланы, лигнин, крахмал в растительном опаде; в почве – гумусовые вещества и ми-

неральные компоненты), которые составляют трофическую основу для сравниваемых сообществ почвенных микроорганизмов.

Совершенно иные характеристики имели актиномицетные комплексы бурозема, сформированного в условиях типичного средиземноморского климата с характерными для него жарким сухим летом и теплой дождливой зимой. В лесном массиве сосны калабрийской (*Pinus brutia* var. *pendulifolia*) на восточном побережье Эгейского моря в результате интенсивного поверхностного стока большая часть верхнего слоя почвы была смыта и на поверхность выходил тонкий щебнистый горизонт. В летний период численность актиномицетов на 1–2 порядка уступала численности, обнаруживаемой в почвах умеренной зоны (табл. 24).

Таблица 24

Численность и структура комплексов актиномицетов в лесном массиве окрестностей п. Ичмелер (Эгейское побережье Турции)

Показатель	Субстраты в парцелле <i>Pinus brutia</i> var. <i>pendulifolia</i>	
	Подстилка	Почва
Общая численность прокариот, вырастающих на КГА, тыс. КОЕ/г	10,00±0,21	66,6±22,5
Доля актиномицетов в прокариотном комплексе, %	1,9–4,8	12,8–51,6
Количество секций и серий рода <i>Streptomyces</i>	1	5
Численность актиномицетов, вырастающих на среде с пропионатом натрия, тыс. КОЕ/г	25,0±14,2	167,0±74,7
Количество родов, выделяемых на среде с пропионатом натрия	2	3
Относительное обилие в комплексе представителей родов, %		
<i>Streptomyces</i>	33,3	73,0–73,8
<i>Micromonospora</i>	66,7	16,1–16,6
олигоспоровые формы	0	10,1–10,4

В отличие от лесных ценозов умеренной зоны, основным местом сосредоточения актиномицетов в средиземноморском лесном биоме явились верхние горизонты почвы ( $0,6–1,7 \times 10^5$  КОЕ/г), а не подстилки ( $1,0–2,5 \times 10^4$  КОЕ/г), которые по количественной представленности мицелиальных прокариот уступали почве приблизительно в шесть раз. Доля актиномицетов в почвенном прокариотном комплексе под кроной сосны калабрийской изменялась в пределах от 13 до 52%, т. е.

была сопоставима с представленностью актиномицетов в прокариотных комплексах почв других природных зон. А в подстилках, напротив, доля актиномицетов характеризовалась незначительными величинами (1,9–4,8%), что, очевидно, можно объяснить слабой степенью разложения субстрата в условиях недостаточной влагообеспеченности в летний период. Известно, что в процесс конвейерной переработки растительного опада актиномицеты вступают на поздних стадиях, разлагая полимеры, труднодоступные для других групп микроорганизмов [102].

В условиях Средиземноморья комплекс актиномицетов, выявляемый на среде с пропионатом натрия, был представлен видами родов *Streptomyces*, *Micromonospora* и олигоспоровыми формами, а в подстилке – только микромоноспорами и стрептомицетами. Доминировали по относительному обилию в почве стрептомицеты (73–74%), в подстилке – микромоноспоровые виды (67%).

Выявляемый на КГА комплекс стрептомицетов включал в основном виды пяти секций и серий (рис. 17).

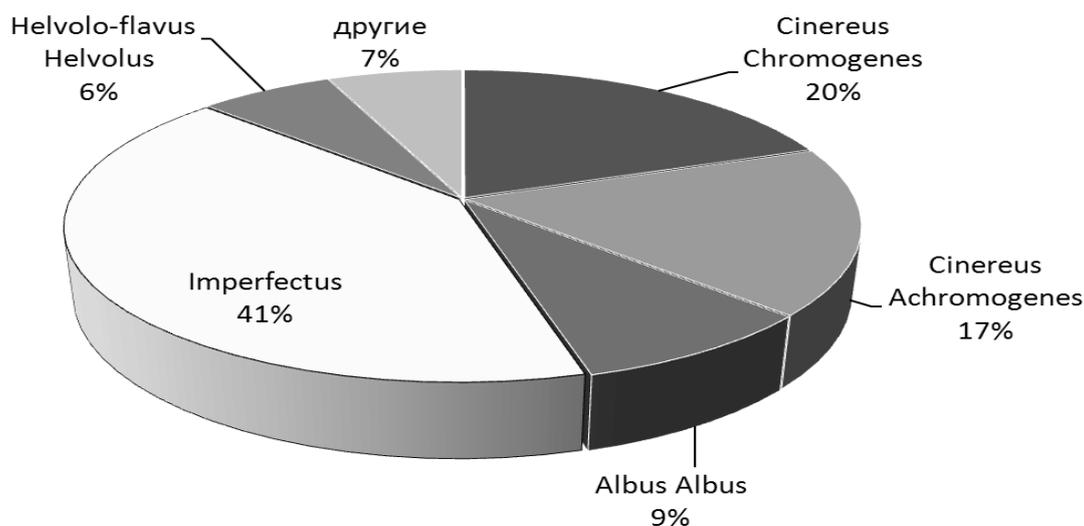


Рис. 17. Долевое участие представителей различных секций и серий в комплексе почвенных стрептомицетов лесного массива окрестностей п. Ичмелер (Эгейское побережье Турции)

Доминировали в почвенном комплексе как по относительному обилию (41%), так и по частоте встречаемости (100%) лишенные воздушного мицелия представители серии Imperfectus (рис. 18).

В лесной подстилке под кроной сосны калабрийской видовая представленность стрептомицетов ограничивалась секцией Albus Albus.

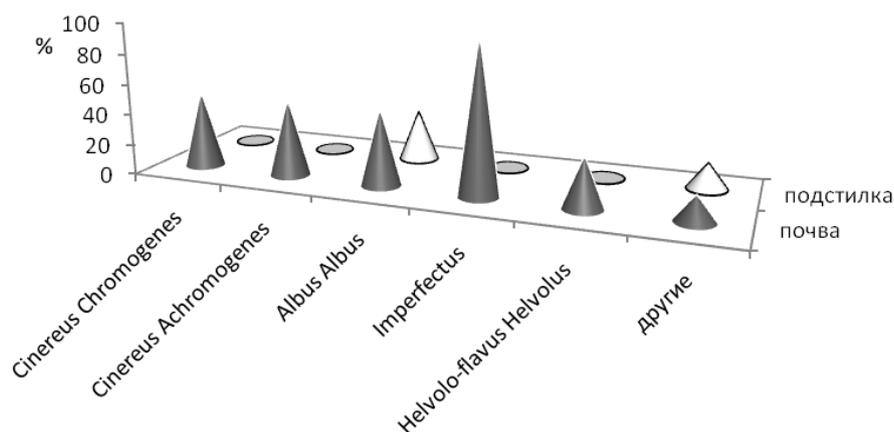


Рис. 18. Частота встречаемости представителей различных секций и серий в комплексе почвенных стретомицетов лесного массива окрестностей п. Ичмелер (Эгейское побережье Турции)

Таким образом, по численности, видовому богатству и спектру доминантов актиномицетный комплекс бурозема, приуроченного к лесному массиву сосны калабрийской на восточном побережье Эгейского моря, существенно отличался от комплексов актиномицетов, характерных для лесных биомов европейского Северо-Востока и Манчжурии.

Географические и природно-климатические особенности структуры комплексов актиномицетов в той или иной почве используют в биоиндикации в качестве фоновых показателей, с которыми сравнивают структуру комплекса в подвергнутой техногенному воздействию почве. Накопление данных, характеризующих актиномицетные комплексы в различных экосистемах, позволяет перейти к выявлению влияния на них различных видов техногенных воздействий. Так, например, при промышленной разработке торфа и последующей рекультивации остаточного слоя торфяной залежи в подзоне южной тайги происходили перестройки в структуре комплекса, проявляющиеся в изменении показателей индексов разнообразия, частоты встречаемости, соотношения типичных и случайных родов и видов, числа и состава типичных доминантных родов в комплексе. Это обеспечило возможность использования комплекса актиномицетов в целях биоиндикации нарушенных болотных экосистем и разработки способов их восстановления [246].

В связи с высокой экологической опасностью объектов хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО) на окружающую среду проводили сравнительное изучение комплексов актиномицетов в ряду сопряженных подзолистых и дерново-подзолистых почв лес-

ных и луговых фитоценозов, расположенных в зоне возможного влияния ОХУХО «Марадыковский», а также вели поиск наиболее информативных экологических показателей для оценки степени экологического риска [248]. В результате производственной деятельности объекта «Марадыковский» в природную среду возможно поступление продуктов деструкции фосфорорганических отравляющих веществ типа  $V_x$ , зарина, зомана, а также мышьяксодержащих органических веществ – двойных ипритно-люизитных смесей. В работе использованы образцы почв, отобранные на площадках системы государственного экологического мониторинга в санитарно-защитной зоне (СЗЗ) объекта «Марадыковский». Участки отбора образцов в пределах СЗЗ расположены относительно равномерно на различном удалении от объекта «Марадыковский» преимущественно в восточном, юго-восточном и южном направлениях и приурочены к лесным и луговым фитоценозам. Выборки для проведения исследований включали по пять образцов лесных и луговых почв каждая (табл. 25).

Таблица 25

Характеристика участков отбора образцов на микробиологический анализ

Фитоценоз	Почва	pH <sub>сол</sub>	От объекта		№ участка
			Расстояние, км	Направление	
1	2	3	4	5	6
Лес	Среднеподзолистая песчаная на водноледниковых отложениях	3,4	1,53	Ю	16
	Дерново-среднеподзолистая легкосуглинистая на водноледниковых отложениях	3,9	2,74	Ю-В	42
	Среднеподзолистая песчаная на водноледниковых отложениях	4,1	3,12	С-В	34
	Дерново-подзолистая супесчаная	3,6	3,78	Ю	62
	Слабоподзолистая песчаная на водноледниковых песках	4,5	6,26	Ю-З	88
Луг	Дерново-подзолистая легкосуглинистая на элювии глин	6,1	2,78	В	38
	Дерново-слабоподзолистая легкосуглинистая грунтово-глеевая на водноледниковых маломощных супесях, подстилаемых пермскими мергелистыми глинами	6,8	5,24	В	73

1	2	3	4	5	6
Луг	Дерново-слабоподзолистая супесчаная на водноледниковых маломощных супесях, подстилаемых пермскими мергелистыми глинами	5,4	6,24	В	84
	Дерново-среднеподзолистая среднесуглинистая на элювии глин	5,8	8,68	В	103
	Дерново-слабоподзолистая среднесуглинистая на элювии глин	5,4	17,1	Ю-В	135

Комплексы актиномицетов в почвах под различными типами фитоценозов (лес и луг) характеризовались значительным количественным и качественным разнообразием. В среднем доля актиномицетов от общего количества прокариот в луговых почвах (36,3%), имеющих значения рН солевой вытяжки 5,4–6,8, была выше, чем в более кислых (рН сол. 3,4–4,5) лесных (21,8%) почвах (табл. 25). Общая численность актиномицетов при учете на КГА в лесных почвах изменялась в пределах десятков тысяч, а в почвах лугов – в пределах сотен тысяч КОЕ/г, вне зависимости от направления и удаленности от объекта (табл. 26).

Численность актиномицетов, вырастающих на агаре с пропионатом натрия, в почвах лесных фитоценозов также уступала в среднем на порядок численности, регистрируемой в почвах лугов (табл. 27). Кроме почвенной кислотности, обусловленной в значительной степени типом фитоценоза, в числе причин, определяющих количественные различия между комплексами почвенных актиномицетов, выступили тип почвы и ее гранулометрический состав. Луговые почвы представлены в районе проведения исследований преимущественно дерново-слабоподзолистыми суглинистыми почвами, тогда как леса приурочены к среднеподзолистым и дерново-подзолистым почвам более легкого гранулометрического состава (табл. 25). Среди луговых почв наиболее низкие –  $(4,7 \pm 0,54) \cdot 10^5$  и  $(6,0 \pm 0,71) \cdot 10^5$  КОЕ/г – значения общей численности актиномицетов на среде с пропионатом натрия (табл. 27) отмечены в дерново-слабоподзолистых почвах, характеризующихся по гранулометрическому составу как супесчаные (табл. 25), тогда как в суглинистых дерново-подзолистых почвах показатель численности на порядок больше. Варьирование уровня численности актиномицетов в ряду прилегающих к объекту почв может быть вызвано, наряду с природными, также техногенными причинами, связанными с его производственной деятельностью.

стью. Влияние типа фитоценоза (фактор А), разновидности почвы (фактор В) и удаленности от объекта (фактор С) на показатели численности актиномицетных комплексов оценивали с помощью трехфакторного дисперсионного анализа. Наибольшее влияние на общую численность актиномицетов в ряду сопряженных почв лесных и луговых угодий в районе проведения исследований оказал тип фитоценоза ( $F = 120,86$ ;  $p \geq 0,0000$ ). Влияние фактора удаленности от объекта хранения и уничтожения химического оружия на общую численность актиномицетов также оценивалось как достоверное ( $F = 24,99$ ;  $p \geq 0,0000$ ) и превосходило влияние почвенной разновидности ( $F = 10,58$ ;  $p \geq 0,0014$ ).

Актиномицетные комплексы, выделяемые из почв, расположенных вблизи объекта «Марадыковский», на среде с пропионатом натрия включали представителей родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium* и олигоспоровые формы. Фактор удаленности от объекта достоверно определял варьирование численности стрептомицетов, микромоноспор и олигоспоровых актиномицетов. Если для микромоноспор и олигоспоровых актиномицетов вклад этого фактора в общее варьирование численности уступал фактору «тип фитоценоза», то для стрептомицетов, напротив, превосходил его (табл. 28).

Ни один из рассматриваемых факторов не оказал существенного влияния на численность стрептоспорангиумов.

Среди выделяемых из почв стрептомицетов встречались виды, принадлежащие к секции *Cinereus* сериям *Achromogenes*, *Chromogenes*, *Aureus*, *Violaceus*, секции *Albus* сериям *Albus* и *Albocoloratus*, секциям *Imperfectus*, *Roseus* и *Helvolo-Flavus*. Индекс Шеннона, отражающий видовое разнообразие стрептомицетов, внутри выборки луговых почв изменялся от  $0,53 \pm 0,16$  в дерново-слабоподзолистой грунтово-глеевой легкосуглинистой до  $2,02 \pm 0,05$  бит/г в дерново-слабоподзолистой супесчаной почве. В ряду лесных почв этот показатель изменялся от  $0,8 \pm 0,47$  в среднеподзолистой песчаной до  $2,330 \pm 0,183$  бит/г в дерново-подзолистой суглинистой почве (табл. 26). Варьирование видового разнообразия стрептомицетов в почвах существенно не зависело ни от типа фитоценоза или разновидности почвы, ни от расстояния до объекта. Несмотря на численное различие показателей индексов Шеннона по разновидностям почв и расстоянию от источника загрязнения, состав доминантов в почвах лесных и луговых биомов был сходен и включал представителей видовых секций и серий *Cinereus Achromogenes*, *Albus Albus* и секции *Imperfectus*.

Таблица 26

**Количественные показатели комплексов почвенных актиномицетов в почвах лесных и луговых биомов  
в зоне возможного влияния ОХУХО**

Показатель	Лес										Луг										
	Расстояние от ОХУХО в направлении, км										Расстояние от ОХУХО в направлении, км										
	юг	юго-восток	северо-восток	юг	юго-запад	восток	восток	восток	восток	восток	юго-восток	юго-восток	восток	восток	юго-восток						
Численность на КГА, тыс. КОЕ/г	1,53	2,74	3,12	3,78	6,26	2,78	292,0±89,3	5,24	6,24	8,68	17,01	17,9±24,2	34,9±8,7	53,64±22,7	50,0±39,2	57,3±5,7	279,3±87,5	307,6±53,0	396,6±127,0	818,6±266,6	
Доля в прокариотном комплексе, %	17,4	25,0	29,9	9,3	27,5	16,6	30,8	59,0	26,5	48,4											
Индекс Шеннона, бит/г	0,80±0,47	2,33±0,18	1,385±0,54	1,189±0,81	1,42±0,16	0,859±0,36	0,53±0,16	2,02±0,05	1,77±0,51	1,92±0,54											

Таблица 27

**Характеристика комплексов актиномицетов, выделяемых на среде с пропионатом натрия**

Фитоценоз	№ участка	Расстояние от объекта, км	Общая численность, тыс. КОЕ/г	Частота встречаемости/долевое участие родов, %				Индекс Шеннона, бит/г
				1 2 3 4				
				1	2	3	4	
Лес	16	1,53	13,3±5,9	100/35,1	100/54,9	60/1,76	40/8,2	1,833±0,704
	42	2,74	47,3±16,2	100/54,96	100/31,8	100/9,8	80/3,5	1,433±0,155
	34	3,12	104,7±49,3	80/9,1	100/46,1	100/44,2	20/0,6	1,329±0,223
	62	3,78	35,9±23,8	40/9,3	100/90,7	0	0	0,301±0,043
	88	6,26	97,1±10,6	100/68,9	100/17,7	20/0,1	100/13,3	1,202±0,062
Луг	38	2,78	2321,3±324,1	100/6,3	100/90,1	100/0,4	100/3,2	0,576±0,076
	73	5,24	470,8±54,5	100/9,4	100/86,2	100/3,9	60/4,5	0,698±0,129
	84	6,24	602,2±70,7	100/23,6	100/63,7	60/1,0	100/2,7	1,118±0,176
	103	8,68	1323,8±258,3	100/71,8	100/26,7	40/0,5	100/1,0	1,078±0,312
	135	17,1	1625,3±312,9	100/80,7	100/17,8	60/0,8	80/0,7	0,848±0,110

Примечание: 1 – *Streptomyces*, 2 – *Micromonospora*, 3 – *Streptosporangium*, 4 – олигоспоровые актиномицеты.

Оценка степени влияния факторов на численность и разнообразие актиномицетов вблизи ОХУХО

Источник варьирования	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Стрептомицеты				
Тип фитоценоза (фактор А)	1	176595,0	1,22	0,2709
Разновидность почвы (фактор В)	1	2,7	18,70	0,0000
Удаленность от объекта (фактор С)	1	3,4	23,87	0,0000
Микромоноспоры				
Тип фитоценоза (фактор А)	1	2,22	145,09	0,0000
Разновидность почвы (фактор В)	1	10361,5	0,07	0,7953
Удаленность от объекта (фактор С)	1	1,79	116,52	0,0000
Олигоспоровые актиномицеты				
Тип фитоценоза (фактор А)	1	18231,4	53,62	0,0000
Разновидность почвы (фактор В)	1	83,43	0,25	0,6211
Удаленность от объекта (фактор С)	1	12258,6	36,05	0,0000
Стрептоспорангииумы				
Тип фитоценоза (фактор А)	1	431,5	1,22	0,2711
Разновидность почвы (фактор В)	1	289,4	0,82	0,3671
Удаленность от объекта (фактор С)	1	1310,5	3,71	0,0562
Общая численность актиномицетов				
Тип фитоценоза (фактор А)	1	2,67	120,86	0,0000
Разновидность почвы (фактор В)	1	2,34	10,58	0,0014
Удаленность от объекта (фактор С)	1	5,53	24,99	0,0000

*Примечание.* *df* – число степеней свободы, *SS* – сумма квадратов, *F* – критерий Фишера, *p* – уровень значимости.

По частоте встречаемости в почвенных комплексах всех исследованных лесных фитоценозов доминировали микромоноспоры (табл. 28). Стрептомицеты входили в число доминантов трех, представители рода *Streptosporangium* – двух, а олигоспоровые актиномицеты – одного комплекса в выборке лесных почв.

Под лугами по частоте встречаемости во всех почвах доминировали представители родов *Streptomyces* и *Micromonospora*, стрептоспорангииумы входили в число доминантов двух, а олигоспоровые актиномицеты – трех из пяти рассматриваемых комплексов луговых почв. В долевого отношении в комплексах почвенных актиномицетов района расположения объекта лидировали микромоноспоры, составляя в среднем 48,2 и 56,9% от общего количества мицелиальных прокариот, соответственно в лесных и в луговых фитоценозах. Относительное обилие стрептомицетов изменялось в широких пределах как в лесных почвах (от 9,1 до 68,9%), так и в почвах под лугами (от 6,3

до 80,7%). Долевое участие рода *Streptosporangium* в среднем (11,2% в лесных и 1,3% в луговых почвах) значительно уступало стрептомицетам и микромоноспорам и было сопоставимо с долевым участием олигоспоровых актиномицетов (0,6–13,3%) в комплексе.

Среди исследованных почв района расположения объекта хранения и уничтожения химического оружия необычной структурой чаще отличались актиномицетные комплексы лесных, чем луговых фитоценозов, возможно, в силу того, что леса примыкают непосредственно к объекту, а луговые фитоценозы находятся преимущественно на некотором удалении от него. Известно, что в актиномицетных комплексах зональных типов почв количественно преобладают стрептомицеты. По результатам наших исследований в актиномицетном комплексе среднеподзолистой песчаной почвы, отобранной под березняком вейниковым на расстоянии 3,12 км к северо-востоку от объекта, доминировали представители родов *Micromonospora* и *Streptosporangium* как по частоте встречаемости (100%), так и по относительному обилию (46,1 и 44,2% соответственно). Согласно данным литературы, из почв лесных биомов представители рода *Micromonospora* выделяются непостоянно и с низкой частотой встречаемости, а представители рода *Streptosporangium* обычно относятся к минорным компонентам актиномицетных комплексов [102]. Представители рода *Streptomyces* хотя и встречались в исследуемой почве с высокой частотой (80%), но характеризовались низким долевым участием (9,1%) в комплексе.

Комплекс актиномицетов дерново-подзолистой супесчаной почвы под березняком черничным на удалении 3,78 км к югу от объекта характеризовался доминированием в нем микромоноспор как по частоте встречаемости (100%), так и по долевному участию в комплексе (91%). Стрептомицеты в комплексе этой почвы занимали позицию типичных редких (частота встречаемости 40%) представителей. Кроме того, структура отличалась редуцированным родовым спектром (от 4 до 2 таксонов), а индекс Шеннона, характеризующий родовое разнообразие актиномицетов, составил в этой почвенной разности всего 0,301 бит/г. Эти данные также свидетельствуют о существенной перестройке структуры комплекса, отличающей его от комплексов мицелиальных прокариот других лесных фитоценозов гумидной зоны.

Отличительной особенностью комплекса актиномицетов слабоподзолистой песчаной почвы под березняком вейниково-черничным, расположенным в 6,26 км к юго-западу от объекта, являлись высокая

частота встречаемости (100%) и доля участия (13,3%) в комплексе олигоспоровых форм, обычно играющих роль редких и случайных, а не доминантных представителей комплекса. По другим параметрам структуры и родовому разнообразию ( $H = 1,202 \pm 0,062$  бит/г) актиномицетного комплекса эта почва, среди лесных наиболее удаленная от объекта, была близка к почвам, расположенным от объекта за пределами 8 км зоны.

Большинство из исследованных луговых почв пространственно находится на более значительном удалении от объекта, чем почвы лесных биомов. Среди выборки луговых почв необычной структурой актиномицетного комплекса выделялась дерново-подзолистая легко-суглинистая почва, отобранная в непосредственной близости от объекта (в 2,78 км в восточном направлении). Ее отличительная особенность заключалась в том, что представители всех выявленных родов актиномицетов характеризовались высокой частотой встречаемости (100%), то есть являлись доминантами. По относительному обилию, как и в большинстве лесных почв, в комплексе лидировали микромоноспоровые (90,1%). Индекс Шеннона, учитывающий не только количество родов, но и соотношение долей участия каждого рода в комплексе, не превышал в этой почве  $0,576 \pm 0,076$  бит/г.

Структурой актиномицетного комплекса, достаточно близкой к описанным ранее для почв таежной зоны [104], характеризовались дерново-подзолистые среднесуглинистые почвы лугов, удаленных на 8,7 км к востоку и на 17,1 км к юго-востоку от объекта «Марадыковский». Поскольку все выявленные отклонения в структуре комплексов актиномицетов как лесных, так и луговых биомов приурочены к почвам внутри зоны радиусом 8 км от объекта хранения и уничтожения химического оружия, можно полагать, что они обусловлены совокупностью техногенных факторов строительства и эксплуатации объекта.

Таким образом, в структуре актиномицетных комплексов почв, примыкающих непосредственно к ОХУХО «Марадыковский», уже через год после его эксплуатации в режиме уничтожения химического оружия были выявлены перестройки, заключающиеся в изменении относительного обилия и частоты встречаемости стрептомицетов и микромоноспор, сокращении или, напротив, расширении видового и родового разнообразия, формировании состава доминантов, отличного от комплексов мицелиальных прокариот в других лесных биомах таежной зоны.

Изучение комплексов почвенных актиномицетов в различных функциональных зонах города и сопоставление их характеристик с содержанием в почвах тяжелых металлов было выполнено на примере г. Кирова [246, 250]. Киров – город с развитой промышленной, транспортной и энергетической инфраструктурой. Электроэнергией и теплом город обеспечивают три ТЭЦ. Киров является крупным транспортным узлом, общая протяженность улично-дорожной сети в городе составляет 562 км. Киров является центром Кировского отделения Горьковской железной дороги, через город проходят Северный и Новый ходы Транссибирской железнодорожной магистрали. В городе расположены крупные предприятия машиностроения и металлообработки, а также предприятия пищевой и легкой промышленности. Важнейшими экологическими проблемами города Кирова являются загрязнение атмосферного воздуха от стационарных промышленных и передвижных источников; низкое качество питьевого водоснабжения; загрязнение грунтовых вод и почв технофильными металлами. В зависимости от общего уровня загрязнения среды и величины нагрузки по ТМ в почвах различных функциональных зон города могут значительно различаться и почвенные микробные сообщества.

Объектами исследования служили образцы почв, отобранные в летний период в различных функциональных зонах города Кирова: санитарные зоны промышленных предприятий (промышленная зона); газоны вдоль наиболее крупных автомагистралей (транспортная зона); дворовые территории (селитебная зона); садово-огородные участки, расположенные в черте города; лесопарковые насаждения в заречной части города (рекреационная зона) (рис. 19).

Для характеристики каждой зоны выполняли химический и микробиологический анализ пространственно удаленных почвенных образцов, отобранных на участках в различных районах города. Для сравнения использовали образцы почв, отобранные на территории Государственного природного заповедника (ГПЗ) «Нургуш», расположенного в подзоне южной тайги, в 50 км к юго-западу от г. Кирова.

Определение содержания тяжелых металлов в почвенных образцах показало неравномерность в распределении ТМ на территории города и более высокое по сравнению с природными почвами (ГПЗ «Нургуш») содержание в урбаноземах цинка, меди, свинца и кадмия (табл. 29) [29, 251, 252].

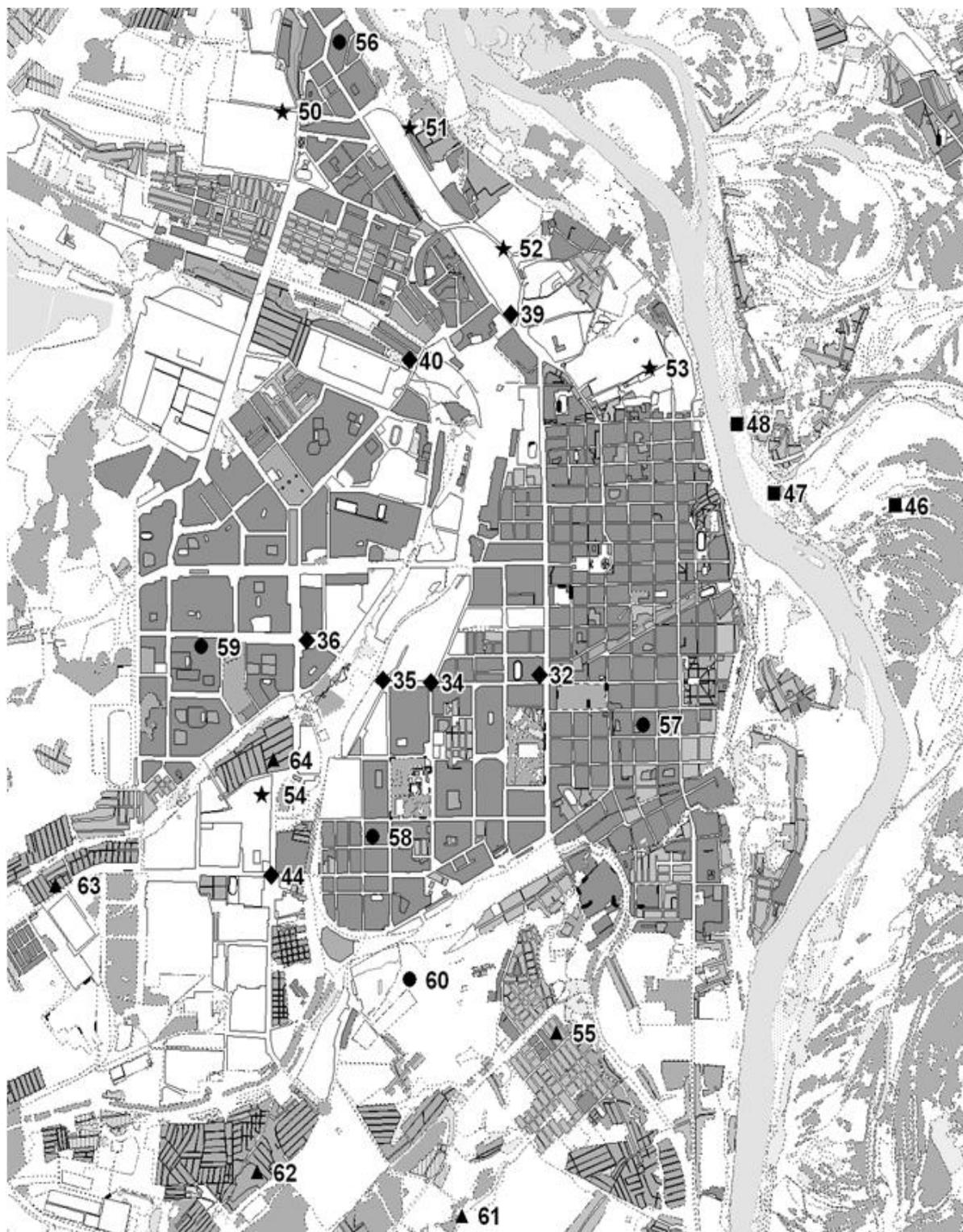


Рис. 19. Карта-схема участков отбора проб почвы: ★ – участки в промышленной зоне; ◆ – участки в транспортной зоне; ● – участки в жилой зоне; ▲ – садово-огородные участки; ■ – участки в рекреационной зоне

Содержание свинца в урбаногемах было максимальным в зоне транспортного загрязнения и превышало фоновые концентрации в 37 раз (4 ПДК). Максимальные концентрации кадмия, меди и цинка наблюдали в санитарных зонах промышленных предприятий. При

этом содержание кадмия превышало фоновое в 4 раза, меди – в 77 раз (4,1 ПДК), цинка – в 14 раз (2,3 ПДК). Почвы на территории города (кроме рекреационной зоны) характеризовались более щелочными значениями реакции среды и меньшим содержанием органического вещества по сравнению с природными зональными почвами.

Таблица 29

Содержание тяжелых металлов, органического вещества и реакция почвенного раствора в исследуемых образцах почв

Функциональная зона	Подвижные формы, мг/кг							pH <sub>KCl</sub>	C <sub>орг</sub> , %
	Cd	Fe	Ni	Cu	Pb	Zn	Сумма		
Зона промышленного загрязнения	<u>0,43</u> 0,04– 1,51	<u>1,57</u> 0,78– 3,22	<u>0,64</u> 0,3– 1,62	<u>12,35*</u> 0,65– 51,19	<u>2,82</u> 1,04– 4,97	<u>28,23*</u> 12,07– 46,6	<u>46,02</u> 17,3– 107,3	<u>7,7</u> 7,5– 8,0	6,83± 0,76
Зона транспортного загрязнения	–	–	–	<u>1,95</u> 0–2,26	<u>23,94*</u> 2,96– 39,48	<u>10,94</u> 9,05– 13,04	<u>36,83</u> 12,01– 54,78	<u>6,7</u> 6,4– 6,8	–
Селитебная зона	<u>0,09</u> 0,05– 0,11	<u>0,35</u> 0,14– 0,46	<u>0,06</u> 0– 0,31	<u>0,43</u> 0,20– 0,78	<u>2,09</u> 1,08– 4,49	<u>22,07</u> 11,05– 36,32	<u>25,09</u> 12,96– 39,61	<u>7,1</u> 6,8– 7,5	9,80± 1,07
Садовые участки	<u>0,09</u> 0,06– 0,14	<u>0,44</u> 0,20– 0,66	0	<u>0,25</u> 0,09– 0,40	<u>1,56</u> 0,89– 2,79	<u>15,97</u> 3,50– 53,25	<u>18,31</u> 4,74– 57,18	<u>6,9</u> 6,5– 7,1	6,83± 0,74
Рекреационная зона	–	–	–	<u>1,39</u> 1,26– 1,60	<u>1,09</u> 0–2,77	<u>1,64</u> 0–3,48	<u>4,12</u> 1,26– 7,85	<u>5,1</u> 4,9– 5,2	–
Природные зональные почвы (фоновые)	<u>0,10</u> 0,09– 0,10	<u>5,14</u> 4,96– 5,32	<u>1,75</u> 1,74 – 1,77	<u>0,16</u> 0,15– 0,17	<u>0,65</u> 0,59– 0,72	<u>1,92</u> 1,67– 2,15	<u>9,72</u> 9,20– 10,23	<u>4,4</u> 4,3– 4,4	11,87 ±1,19

*Примечание.* Над чертой – среднее значение по функциональной зоне; под чертой – максимальное и минимальное значения; «–» – определение не проводилось; «\*» – наблюдалось превышение ПДК (предельно допустимые концентрации подвижных форм ТМ в почве).

Исследованные почвы в порядке убывания суммарного содержания трех наиболее значимых металлов-загрязнителей (Pb, Cu, Zn) составили следующий ряд: промышленная зона (43,4 мг/кг); транспортная зона (36,8 мг/кг); селитебная зона (24,6 мг/кг); садово-огородные участки (17,8 мг/кг); рекреационная зона (4,1 мг/кг).

В наиболее загрязненных ТМ промышленной, транспортной и селитебной функциональных зонах доминировали по частоте встречаемости стрептомицеты (100%) и микромоноспоры (83–93%) (рис. 20).

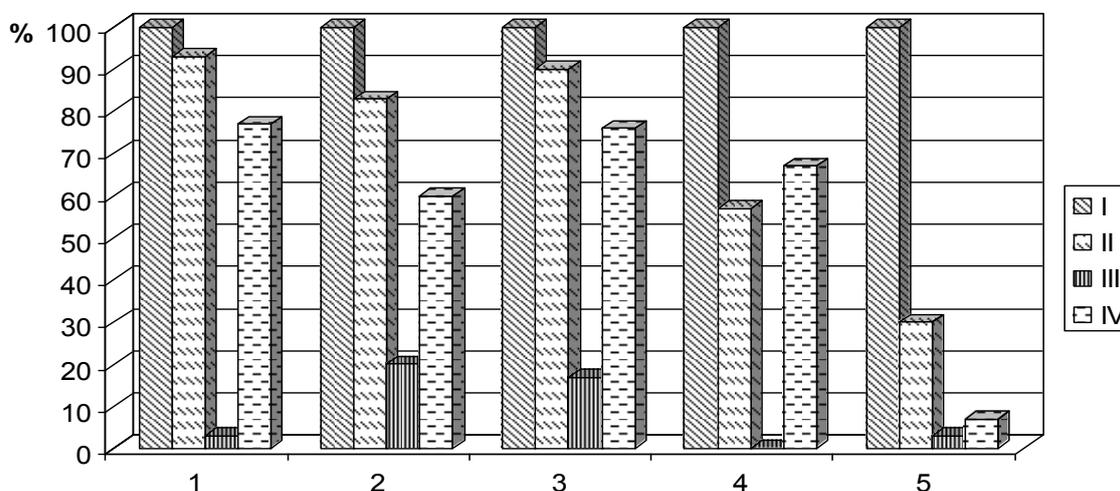


Рис. 20. Частота встречаемости родов *Streptomyces* – I, *Micromonospora* – II, *Streptosporangium* – III и олигоспоровых видов – IV в комплексах актиномицетов из почв различных функциональных зон: 1 – промышленные, 2 – транспортные, 3 – селитебные, 4 – садовые, 5 – рекреационные

В почвах более чистых функциональных зон доминанты были представлены только родом *Streptomyces*, а микромоноспоры на основании более низкой частоты встречаемости были отнесены к типичным частым в комплексе садово-огородных почв (57%) и к типичным редким – в почвенном комплексе рекреаций (30%). Особенностью комплекса актиномицетов почвы исследованных городских функциональных зон, кроме почв рекреации, является высокая частота встречаемости олигоспоровых актиномицетов, что нехарактерно для природных почв зонального типа. В почвах, отобранных в промышленной (77%), транспортной (60%), селитебной (76%) и садово-огородной (67%) функциональных зонах, олигоспоровые актиномицеты были отнесены к типичным частым, тогда как в актиномицетном комплексе почвы рекреационной зоны (7%) выявлялись лишь как случайные. Отмечена также более высокая, по сравнению с другими экотопами, частота встречаемости представителей рода *Streptosporangium* в комплексе почвенных актиномицетов транспортной (20%) и селитебной (17%) зон, где они занимали позицию типичных редких родов.

Родовое разнообразие актиномицетов, рассчитанное с помощью индекса Шеннона (H, бит/г), в почвах функциональных зон, загрязненных ТМ, было выше, чем в более чистых почвах. Значения индекса Шеннона постепенно снижались в следующем ряду функциональных зон: промышленная ( $H = 0,864 \pm 0,256$ )  $\geq$  транспортная ( $H = 0,850 \pm 0,360$ )  $\geq$  селитебная ( $H = 0,625 \pm 0,126$ )  $\geq$  садово-огородная ( $H = 0,438 \pm 0,215$ )  $\geq$  рекреационная ( $H = 0,244 \pm 0,158$ ). Более высокое, чем в природных почвах, разнообразие актиномицетов определяется, очевидно, значительной субстратной гетерогенностью городских почв, особенностями микроклимата в условиях городской среды, более разнообразными путями заноса актиномицетных спор извне.

В зависимости от категории экотопа различалась видовая представленность в почвенных комплексах рода *Streptomyces* (рис. 21).

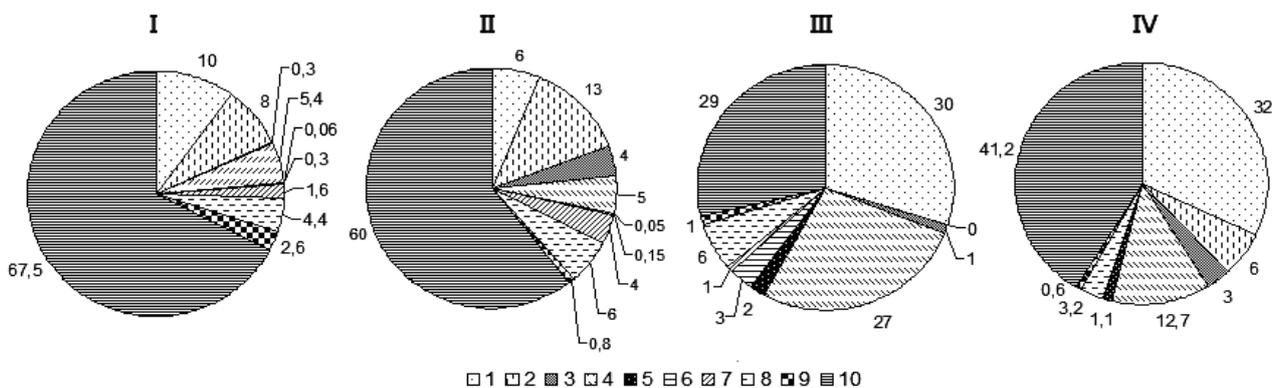


Рис. 21. Долевое участие видов стрептомицетов: 1 – *Albus Albus*, 2 – *Albus Albocoloratus*, 3 – *Cinereus Chromogenes*, 4 – *Cinereus Achromogenes*, 5 – *Cinereus Violaceus*, 6 – *Cinereus Aureus*, 7 – *Helvolo-Flavus Flavus*, 8 – *Helvolo-Flavus Helvolus*, 9 – *Roseus Ruber*, 10 – *Imperfectus* – в зависимости от функциональной зоны: I – почвы промышленной зоны, II – почвы транспортной зоны, III – почвы селитебной зоны, IV – садово-огородные почвы

Характерной особенностью комплекса стрептомицетов в наиболее загрязненных ТМ функциональных зонах города – транспортной ( $60 \pm 10,2\%$ ) и промышленной ( $67,5 \pm 12,4\%$ ) – являлось высокое долевое участие представителей секции *Imperfectus*. В селитебных ( $29 \pm 15,4\%$ ) и садово-огородных ( $41 \pm 17,8\%$ ) почвах доля видов секции *Imperfectus* была значительно меньше, но увеличивалось относительное обилие представителей секций и серий *Albus Albus* и *Cinereus Achromogenes*. Их доля участия в комплексе превышала в 3–5 раз аналогичный показатель для почв транспортной и промышленной зон.

По сравнению с комплексом селитебных почв, в более загрязненных ТМ почвах увеличилась частота встречаемости пигментированных видов из секций и серий *Albus Albocoloratus*, *Helvolo-Flavus Flavus*, *Roseus Ruber*. Это говорит в пользу их большей выносливости к комплексу негативных факторов городской среды и действию ТМ в частности.

Сопоставление полученных данных о родовой структуре комплекса актиномицетов и видовой представленности стрептомицетов в почвах разных функциональных зон города с содержанием в почвах ТМ указывает на то, что в загрязненных почвах происходит существенная перестройка в структуре актиномицетных комплексов и, как результат, формирование резистентного к загрязнению сообщества актиномицетов. О специфичности актиномицетных комплексов, сформировавшихся под воздействием комплекса загрязнителей, характерных для отдельных функциональных зон города, говорят результаты количественной оценки сходства и различий в их структуре, проведенной с использованием совокупности полученных характеристик. Значения коэффициента Соренсена, полученные в результате попарного сравнения комплексов актиномицетов в почвах исследованных функциональных зон, изменялись в пределах от 3 до 57,9%, что позволяет говорить скорее о различии данных комплексов, нежели об их сходстве (табл. 30).

Таблица 30

Матрица степени сходства (S, %) актиномицетных комплексов различных функциональных зон города

Функциональная зона	Промышленная зона	Транспортная зона	Селитебная зона	Садово-огородные участки	Рекреационная зона
Промышленная зона		8,6	7,2	57,9	3
Транспортная зона	8,6		13,5	52	11,4
Селитебная зона	7,2	13,5		56,4	9,5
Садово-огородные участки	57,9	52	56,4		40,6
Рекреационная зона	3	11,4	9,5	40,6	

Расстояния между рекреацией и промышленной зоной были самыми значительными (3% сходства), а наиболее близкими по структуре из исследованных оказались комплексы промышленной и садовой функциональных зон (57,9%).

Каждая функциональная зоны города, таким образом, характеризуется специфическим комплексом почвенных актиномицетов. Выявленные различия в составе актиномицетных комплексов объясняются, по-видимому, избирательной устойчивостью отдельных представителей к специфическим условиям городской среды, имеющим место в различных функциональных зонах города.

Таким образом, родовая структура комплексов актиномицетов в наиболее загрязненных ТМ городских почвах (промышленной и транспортной зоны) характеризуется более высоким долевым участием и частотой встречаемости представителей рода *Micromonospora* и олигоспоровых актиномицетов, чем в других функциональных зонах города и природных почвах зонального типа, и, вследствие этого, более высоким родовым разнообразием.

В почвах с повышенным содержанием ТМ увеличивается видовая представленность стрептомицетов из пигментированных секций и серий *Cinereus Chromogenes*, *Helvolo-Flavus Flavus*, *Roseus Ruber*, а также стрептомицетов из секции *Imperfectus* (виды с отсутствием воздушного мицелия). Для почв селитебной зоны и садово-огородных участков, напротив, как и для природных почв гумидной зоны, характерно преобладание в стрептомицетном комплексе видов из секций и серий *Albus Albus*, *Cinereus Achromogenes*.

### **1.3. Микромицеты в диагностике состояния почв в агроэкосистемах**

В настоящее время выполнено много работ и накоплен значительный фактический материал, свидетельствующий о высокой степени реагирования микроскопических грибов на изменение условий окружающей среды и широких возможностях использования микобиоты в оценке качества природных сред [90, 146, 215]. Перестройки грибных комплексов в почве зависят в первую очередь от специфики растительного опада, от сезонных колебаний температуры и влажности, от состава минеральных элементов в почве и взаимоотношений грибов с другими компонентами почвенной биоты. В конечном итоге состав и структура грибного комплекса в почве зависят от простран-

ственной и временной изменчивости этих факторов и их сочетаний. В агроэкосистемах ведущую роль в развитии грибных сукцессий в почве могут играть факторы, обусловленные применяемой системой земледелия: характером механической обработки почвы, биологическими особенностями возделываемой культуры, системой удобрения и т. д.

Любые применяемые в настоящее время методы микологических анализов все еще не позволяют оценить всю совокупность микромицетов в почвенной экосистеме и определить функциональные отношения между ними. Для оценки тех или иных воздействий на почву в систему биотических параметров грибных сообществ рекомендуется включать, по возможности, комплекс микологических показателей, при этом предпочтение следует отдавать показателям с наименьшим варьированием в одинаковых условиях. Наряду с прямыми микроскопическими методами исследования грибных популяций в почве, включающими измерение длины грибного мицелия (окрашенного и неокрашенного) и подсчет спор и фрагментов мицелия [75] для характеристики биоморфологической структуры микромицетов, широкое распространение в биоиндикации получило изучение таксономической структуры комплексов микроскопических грибов по результатам непрямого метода – посева почвенных суспензий на питательные среды. Посев позволяет не только провести количественный учет грибных пропагул в почве, но и выделить отдельных представителей микобиоты из природных местообитаний в чистую культуру и идентифицировать их в процессе дальнейшего выращивания на питательных средах. В то же время при использовании прямого микроскопического метода учета грибов невозможно провести их идентификацию [289].

Посев разведений почвенных суспензий на питательные среды, дифференцированный учет вырастающих колоний по морфотипам, выделение и последующая идентификация чистых культур микромицетов позволяют описать структуру почвенного микромицетного комплекса в синэкологических показателях: частота встречаемости, доленое участие в комплексе представителей отдельных таксонов, разнообразие, структура доминирования. Сравнение полученных количественных и качественных характеристик с аналогичными характеристиками комплекса микроскопических грибов почвы, выбранной в качестве контроля, может дать представление о степени имеющихся различий, поможет оценить эффективность применяемых в сельском

хозяйстве приемов и технологий, прогнозировать дальнейшую направленность процесса.

Ключевым фактором, определяющим структуру микробного сообщества и его активность в почвах, используемых в земледелии, является характер и интенсивность основной обработки почвы. Наиболее часто в нашей стране используют вспашку лемешными плугами на глубину 20–22 см, в процессе которой происходит рыхление пахотного слоя, оборот пласта и заделка растительных остатков. Однако традиционный способ обработки может приводить к снижению плодородия почвы вследствие эрозии и потери органического вещества. В качестве альтернативного приема, отвечающего задаче минимизации обработки почвы, рассматривают поверхностную плоскорезную обработку – рыхление почвы на глубину до 14–16 см, без оборачивания пласта, с сохранением стерни на поверхности, что обеспечивает защиту почвы от деградации и устойчивость ее микробного пула [40]. Имеющиеся в литературе сведения о влиянии того и другого способа обработки на микобиоту почвы довольно противоречивы, поскольку на влияние фактора обработки почвы накладываются и другие: климатическая зона, тип почвы, возделываемая культура, складывающиеся в год испытаний погодные условия и т. д.

Поверхностная (минимальная) обработка, по мнению ряда авторов, способствует интенсивному развитию почвенных микромицетов в верхнем слое почвы. Так, в севооборотах Центральной черноземной зоны их численность по плоскорезной обработке превосходила вспашку на 180% [127].

Минимизация обработки почвы в условиях южной лесостепи Омского Прииртышья сопровождалась увеличением численности микроскопических грибов на 46–58% по отношению к тем же показателям к вспашке [236]. Подобные результаты были отмечены при многолетней минимизации механической обработки на выщелоченных черноземах Новосибирского Приобья [70]. В отличие от черноземов, поверхностная обработка дерново-подзолистой почвы в Ярославской области по сравнению со вспашкой влияла негативно на комплексы микромицетов, снижая их численность [120].

Кроме количественных изменений, обусловленных характером основной обработки почвы, некоторые исследователи отмечают также изменения качественного состава почвенной микобиоты. Так, при поверхностной плоскорезной обработке чернозема обыкновенного в подзоне северной лесостепи Тюменской области в почве накаплива-

лись грибы *Fusarium sporotrichiella*, *F. sambucinum*, *Penicillium cyclopium* с токсигенными и фитотоксичными свойствами [143]. К увеличению встречаемости в грибных сообществах токсигенных видов *P. funiculosum*, *P. janthinellum*, *P. martensii*, *P. nigricans* приводила в условиях дерново-подзолистой почвы Республики Марий Эл, наряду с минимизацией обработки, также длительная интенсивная обработка – вспашка [147].

В условиях подзоны южной тайги европейского Северо-Востока мы проводили оценку воздействия различных способов основной обработки почвы на прикорневую микобиоту яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Сорт Свеча выращивали в севообороте с чередованием культур: викоовсяная смесь – озимая рожь – яровая пшеница – горохоовсяная смесь – ячмень – на дерново-подзолистой средне-суглинистой почве. Агрохимические показатели почвы:  $pH_{\text{сол.}}$  – 5,0; гидролитическая кислотность – 3,6; сумма поглощенных оснований – 14,3 мг-экв./100 г почвы; содержание  $P_2O_5$  – 140–180 мг и  $K_2O$  – 150–200 мг на 1 кг почвы (по Кирсанову), гумуса – 1,7% (по Тюрину). Опыт стационарный, соответствующую обработку почвы проводили в течение пяти лет на одних и тех же участках. Схема опыта: 1 – вспашка на 20–22 см (контроль); 2 – комбинированная плоскорезная обработка на 14–16 см.

Количество грибных пропагул в прикорневой зоне яровой пшеницы в фазу колошения изменялось от сотен тысяч до десятков миллионов КОЕ в 1 г субстрата в зависимости от локуса (ризосфера или ризоплана) и характера основной обработки почвы (табл. 31). Обработка данных методом двухфакторного дисперсионного анализа показала, что в фазу колошения растений количество грибных пропагул на фоне вспашки ( $3,3 \times 10^5$  и  $2,8 \times 10^7$  КОЕ/г в ризосфере и ризоплане соответственно) существенно выше, чем при плоскорезной обработке почвы ( $1,2 \times 10^5$  и  $4,7 \times 10^5$  КОЕ/г соответственно). Более низкая, в сравнении со вспашкой, плотность заселения микромицетами ризосферы пшеницы на фоне плоскорезной обработки почвы сохранилась и в фазу молочно-восковой спелости растений.

На основе анализа показателей относительного обилия (табл. 31) и частоты встречаемости (рис. 22) в комплексе выявлены типичные таксоны микроскопических грибов для ризосферы и ризопланы пшеницы в условиях дерново-подзолистой почвы. Общее количество выделяемых таксонов в ризосфере (7 родов) было выше, чем в ризоплане (5 родов), вне зависимости от характера основной обработки поч-

вы. Доминировали (частота встречаемости более 60%) в том и другом локусе микромицеты *Penicillium* spp. и *Acremonium* spp. На долю различных видов пенициллов в ризосферном комплексе пшеницы в фазу колошения приходилось до 84% при вспашке и до 95% на фоне плоскорезной обработки почвы (табл. 31). На более поздней стадии развития растений доленое участие этого рода в ризосфере понизилось во всех вариантах опыта. На фоне плоскорезной обработки почвы в состав доминантов в ризосферном комплексе входили также микромицеты *Mucor* spp. (рис. 22А).

Таблица 31

Численность и состав микроскопических грибов в ризосфере и ризоплане яровой пшеницы в зависимости от способа основной обработки почвы

Показатель	Вспашка	Плоскорезная обработка
	Фаза колошения	
1	2	3
Общее количество КОЕ, тыс, /г	$\frac{330 \pm 87}{27905 \pm 2636}$	$\frac{122 \pm 28}{470 \pm 216}$
Относительное обилие родов, %		
<i>Penicillium</i> Link ex Fr	82/38	75/79
<i>Acremonium</i> Link	16/61	15/21
<i>Mucor</i> Micheli ex Saint-Amans	1,4/0,7	4/0
<i>Cladosporium</i> Link	0/0,2	5/0
<i>Rhizopus</i> Ehrenberg ex Corda	0	1/0
<i>Althernaria</i> Nees	0	0/2,3
<i>umicola</i> Traaen	0,7/0	0
Общее количество родов	5	6
	Фаза молочно-восковой спелости	
Общее количество КОЕ, тыс, /г	$\frac{1082 \pm 132}{2808 \pm 523}$	$\frac{501 \pm 342}{2410 \pm 1120}$
Относительное обилие родов, %		
<i>Penicillium</i> Link ex Fr	44/22	35/22
<i>Acremonium</i> Link	27/77	36/37
<i>Aspergillus</i> Micheli:Fr,	9/0	0
<i>Mucor</i> Micheli ex Saint-Amans	4,4/0,8	8,1/9,4
<i>Cladosporium</i> Link	0,4/0	2/4,7
<i>Fusarium</i> Link ex Fr	0,4/0	0/1,6
<i>Althernaria</i> Nees	0	0/2,3
<i>Humicola</i> Traaen	0,7/0	0
Общее количество родов	7	6

Примечание. В числителе приведены значения для ризосферы, в знаменателе – для ризопланы.

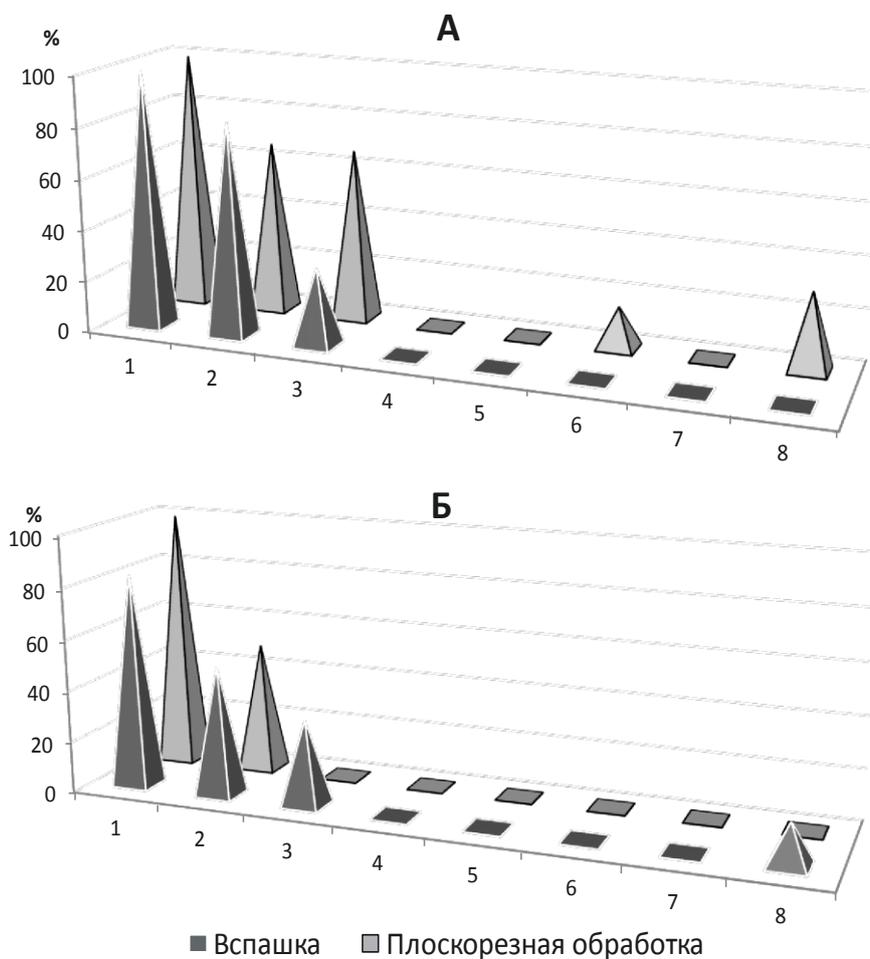


Рис. 22. Частота встречаемости (%) микромицетов в ризосфере (А) и ризоплане (Б) яровой пшеницы в зависимости от способа обработки почвы. 1 – *Penicillium* spp., 2 – *Acremonium* spp., 3 – *Mucor* spp., 4 – *Trichoderma* spp., 5 – *Paecilomyces* spp., 6 – *Rhizopus* spp., 7 – *Fusarium* spp., 8 – *Cladosporium* spp.

При поверхностной обработке на поверхности почвы остается стерня, на которой к весне созревают аскоспоры возбудителей некоторых опасных болезней зерновых культур. Поэтому при минимизации обработки зачастую в посевах наблюдается высокий уровень зараженности фитопатогенами, среди которых ведущую роль играют возбудители корневых инфекций из рода *Fusarium* [30, 299, 349, 361] и *Bipolaris sorokiniana* [30]. В ряде стран Западной Европы уплотнение почвы, обусловленное минимизацией обработки, рассматривают как причину появления в посевах фитопатогенных грибов *Pythium oligandrum* [366]. Минимизация обработки по сравнению со вспашкой способствует увеличению распространения в посевах пшеницы также возбудителей листостебельных болезней *Drechslera tritici-repentis*, *Alternaria triticina* [299], *Septoria tritici* [30, 299].

В связи с описанными в литературе фитопатологическими последствиями основного способа обработки почвы возникает вопрос:

насколько возможно ограничить распространение потенциально опасных для растений грибов, используя для этого препараты химической и биологической защиты растений?

Чтобы сохранить и повысить плодородие почвы, необходимо в оценке различных средств защиты растений учитывать как сельскохозяйственные, так и экологические критерии.

Протравливание семян фунгицидами, снижая численность или полностью подавляя активность вредных микроорганизмов в начале развития растений, улучшает их рост и развитие, способствует общему оздоровлению и повышению продуктивности растений. Вместе с тем фунгициды не обладают селективностью действия, и возможным следствием их применения может быть общее сокращение микобиоты. Часто отмечаемое спустя определенное время после применения фунгицида восстановление первоначального состояния грибного комплекса нуждается в дифференцированной оценке. Является ли новое заселение идентичным исходному только количественно или также и качественно?

Для ответа на поставленный вопрос мы выявляли изменения структуры комплексов микроскопических грибов в прикорневой зоне озимой ржи, происходящие в результате предпосевной обработки семян фунгицидом Байтан универсал в ризосфере озимой ржи Вятка 2 в условиях мелкоделяночного полевого опыта. Дерново-подзолистая легкосуглинистая почва опытного участка характеризовалась следующими агрохимическими показателями: рН 4,55, обменная кислотность 0,11 мг-экв./100 г, содержание подвижного алюминия 0,58 мг/100 г, содержание  $P_2O_5$  – 154 и  $K_2O$  – 168 мг/кг почвы. Семена озимой ржи Вятка 2 протравливали перед посевом препаратом Байтан-универсал – 19,5% сухой порошок (основное действующее вещество – триадименол – относится к группе гетероциклических производных триазола).

Снижение в результате протравливания инфицированности семян повлекло за собой положительные тенденции в формировании продуктивности растений озимой ржи. Урожайность зерна в опытном варианте достоверно ( $P = 0,95$ ) превысила урожайность в контрольном варианте – на 18%. В ризосфере озимой ржи в результате обработки семян фунгицидом на первом этапе развития растений наблюдалось существенное снижение численности и разнообразия грибного населения по сравнению с контролем (рис. 23).

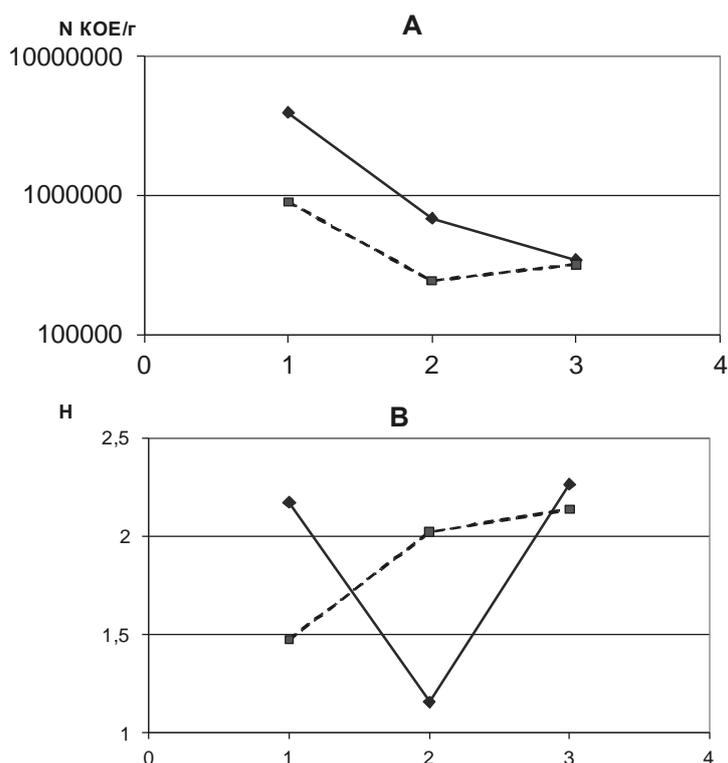


Рис. 23. Динамика численности (А) и разнообразия (В) микромицетов в ризосфере озимой ржи после обработки фунгицидом байтан-универсал

Различия между численностью грибов в ризосфере растений контрольного и опытного вариантов в фазу весеннего отрастания уменьшились по сравнению с осенним сроком наблюдений, а к окончанию вегетации численность грибной популяции восстановилась до исходного уровня. Соответственно этому увеличились к наступлению фазы молочно-восковой спелости численность и разнообразие мицелиальных прокариот, ассоциированных с корнями опытных растений, достигнув уровня численности в контрольном варианте.

Если в количественном отношении после применения фунгицида в ризосфере произошло восстановление первоначальной плотности грибных опуляций, то в качественном составе ризосферных микробных сообществ до конца вегетации сохранились изменения, обусловленные предпосевным протравливанием семян. Так, в ризосферном комплексе микромицетов снизились показатели частоты встречаемости и относительного обилия не только представителей рода *Fusarium*, но и родов *Rhizopus*, *Mucor*, *Mortierella*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Trichoderma*. Одновременно возросли доля участия и частота встречаемости в комплексе рода *Acremonium* (рис. 24).

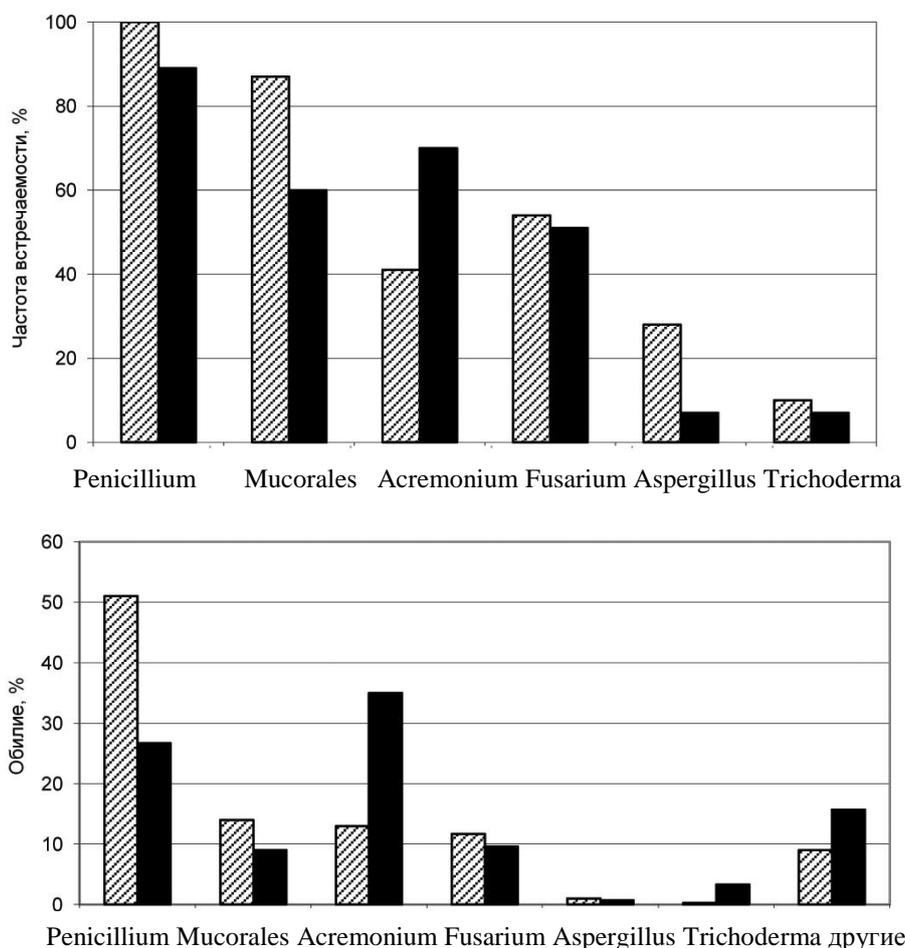


Рис. 24. Влияние обработки семян байтаном на экологические показатели структуры комплекса грибов в прикорневой зоне озимой ржи на дерново-подзолистой почве

Ряд авторов считает, что такие микроорганизмы, как *Trichoderma* [281], непатогенные штаммы грибов рода *Fusarium* [311], ряд непатогенных бактерий служат основой супрессивности почв, оказывая антагонистическое действие на многие фитопатогены. Поэтому прямое ингибирующее действие байтана на микромицеты и опосредованное – на бактерии может иметь своим следствием снижение естественного уровня супрессивности почв.

Поскольку показатели численности грибов за период наблюдений восстановились практически до исходного уровня, но изменения в соотношении между отдельными родами и видами сохранялись в комплексах микромицетов, угнетающее действие байтана на микромицеты может иметь своим следствием снижение естественного уровня супрессивности почв и способствовать их подкислению.

К числу перспективных агентов биологического контроля заболеваний, вызываемых грибами, относят ризосферные бактерии рода *Pseudomonas* [387] и представителей рода *Streptomyces* [356].

Нами в полевом опыте были выявлены изменения в структуре комплексов микроскопических грибов в прикорневой зоне яровой мягкой пшеницы в результате предпосевной инокуляции семян антагонистически активными культурами этих микроорганизмов. Семена перед посевом инокулировали изготовленным в лабораторных условиях биопрепаратом на основе штамма *S. hygroscopicus* А4 (титр  $10^4$  КОЕ/мл, из расчета 0,5 л/т) и Псевдобактерином-2, произведенным на основе штамма *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393 (1,0 л/т). Контролем служил вариант с обработкой семян водой.

В работе использовали два сорта яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) – Свеча и Баженка. Образцы для анализа отбирали по фазам развития растений: кущение, цветение, молочно-восковая спелость.

В результате инокуляции семян пшеницы биопрепаратами произошли изменения в количественном и качественном составе микромицетного комплекса, более выраженные в ризосфере сорта Баженка, чем в ризосфере сорта Свеча. Так, если в ризосфере пшеницы Свеча динамика численности грибных пропагул в вариантах с Псевдобактерином-2 и биопрепаратом, изготовленным на основе штамма *S. hygroscopicus* А4, была близка к контролю без инокуляции, то в ризосфере Баженки оба препарата способствовали снижению численности грибов по сравнению с контрольным вариантом (рис. 25). Однако под воздействием Псевдобактерина-2 плотность заселения ризосферной почвы грибами была на протяжении всего периода наблюдений меньше на порядок, чем в контроле, а под влиянием *S. hygroscopicus* А4 снижение численности грибов происходило лишь в пределах порядка и только во второй межфазный период «цветение – молочно-восковая спелость растений». Аналогичным образом изменялась в результате обработки семян биопрепаратами численность микромицетов и в ризоплане исследуемых сортов пшеницы.

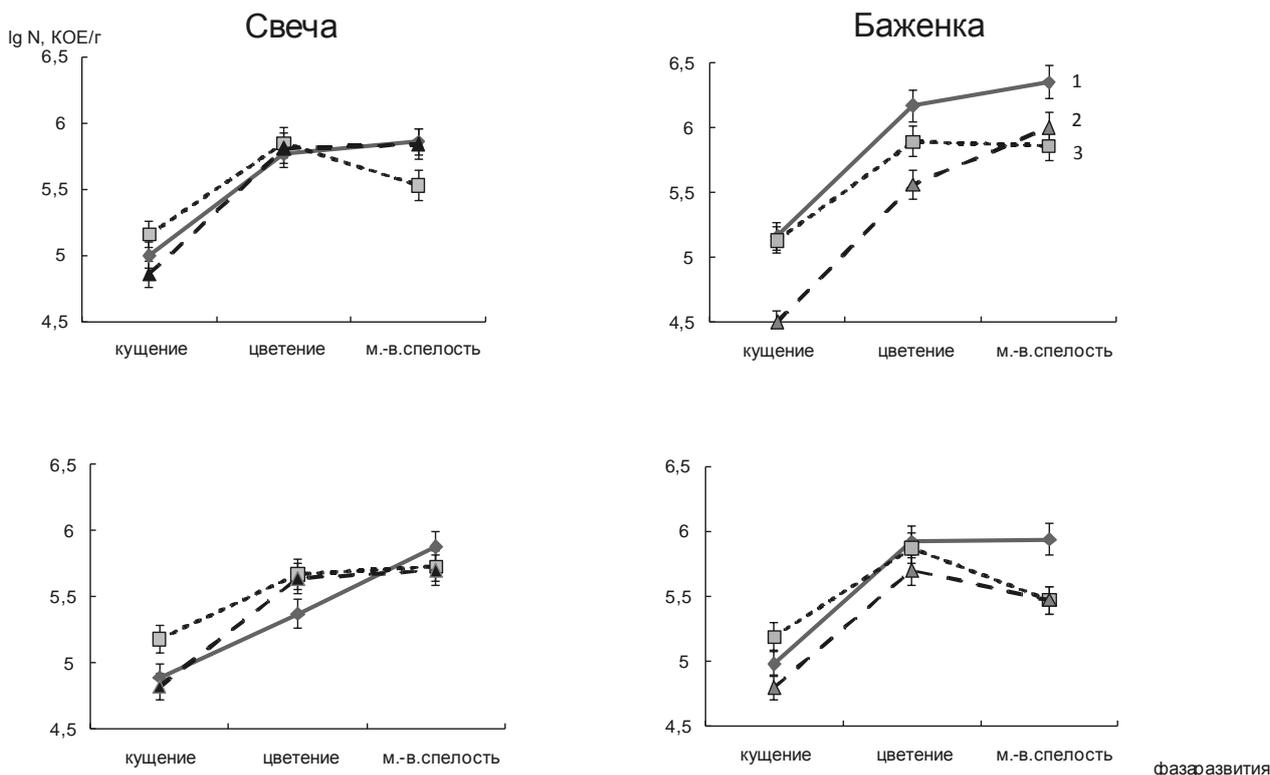


Рис. 25. Динамика численности (КОЕ/г субстрата) грибов в ризосферной почве (вверху) и в ризоплане (внизу) мягкой пшеницы разных сортов в зависимости от предпосевной обработки биопрепаратами. 1 – контроль (без фунгицида), 2 – Псевдобактерин-2, 3 – *S. hygroscopicus* A4

На основе анализа показателей пространственной и временной частот встречаемости, относительного обилия выявлены типичные для ризосферной почвы и ризопланы пшеницы таксоны микроскопических грибов (в условиях дерново-подзолистой почвы). Доминировали (частота встречаемости более 60%) в том и другом местообитании микромицеты рода *Penicillium* (табл. 32). На долю различных видов пенициллов в контрольном варианте приходилось до 40% в ризосфере и до 68% в ризоплане. Высоким был процент обнаружения в ризосферной почве (50–61%) и в ризоплане (39–67%) представителей родов *Fusarium* и *Acremonium*. Доля их участия в комплексах была, как правило, менее значительной, чем рода *Penicillium*, и сильно варьировала в зависимости от генотипа и фазы развития растений. В комплексе ризопланы с высокой частотой встречались также представители родов *Cladosporium* и *Mucor*, хотя их относительное обилие не превышало 16%.

Таблица 32

Изменение структуры комплексов микромицетов мягкой пшеницы в зависимости от обработки семян биологическими препаратами

Таксон	Частота встречаемости/мин. - макс. обилие в комплексе представителей рода, %																			
	контроль				S. <i>hygrosoriscus</i> A4				Псевдобактерин-2				контроль		S. <i>hygrosoriscus</i> A4		Псевдобактерин-2			
	1		2		1		2		1		2		1		2		1		2	
<i>Penicillium Link</i> ex Fr.	83	67	73	100	89	83	78	100	67	94	67	94	67	94	67	94	67	94	67	94
	24-40	6-50	27-63	45-47	27-70	11-55	15-38	24-68	9-40	7-66	9-40	7-66	9-40	7-66	9-40	7-66	9-40	7-66	9-40	7-66
<i>Fusarium Link</i> ex Fr.	56	67	22	61	22	78	50	39	6	39	50	39	6	39	50	39	6	39	50	39
	11-34	3-26	0-17	7-47	0-25	4-35	23-27	1-34	0-3	3-9	1-34	3-9	0-3	3-9	1-34	3-9	0-3	3-9	1-34	3-9
<i>Acromonium Link</i>	56	61	61	50	72	50	61	61	50	61	50	61	61	50	61	50	61	50	61	50
	2-44	0-69	9-47	1-23	7-37	2-28	2-35	4-59	0-59	4-67	0-59	4-67	0-59	4-67	0-59	4-67	0-59	4-67	0-59	4-67
<i>Mucor Micheli</i> ex Saint-Amans	28	28	11	34	0	33	32	44	6	39	32	44	6	39	32	44	6	39	32	44
	0-32	0-16	0-6	1-15	0	0-16	0-11	0-14	0-14	4-14	0-11	0-14	0-14	4-14	0-11	0-14	0-14	4-14	0-11	0-13
<i>Cladosporium</i> Link	28	44	33	28	28	78	22	39	50	28	22	39	50	28	28	39	50	28	28	44
	5-23	3-16	2-21	2-8	0-18	8-13	0-25	0-7	18-70	0-18	0-25	0-7	18-70	0-18	0-25	0-7	18-70	0-18	0-25	4-11
<i>Phialophora</i> Medlar	0	6	0	6	0	11	11	11	0	0	11	11	0	0	0	0	0	0	0	6
	0	0-1	0	0-2	0	0-3	0-9	0-4	0	0	0-3	0-4	0	0	0	0	0	0	0	0-4
<i>Althernaria Nees</i>	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
	0	0	0	0	0	0-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1-4
<i>Abydiavan</i> Tieghem	0	11	6	6	0	6	0	0	6	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	11
	0	0-2	0-6	0-2	0	0-1	0	0	0-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-11
<i>Trichoderma Pers</i>	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
	0	0	0	0-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-20	0
<i>Humicola Traaen</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-6	0
<i>Chryzosporium</i> Cor da	0	0	0	6	0	0	11	6	6	0	11	6	6	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0-2	0	0	1-8	0-3	0-4	0	1-8	0-3	0-4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus Mich.</i> ex Fr.	0	0	0	0	0	0	6	0	0	10	6	0	0	10	6	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0-4	0	0	0-5	0-4	0	0	0-5	0-4	0	0	0	0	0
Прочие	0	22	28	50	6	17	6	28	50	22	6	28	50	22	6	28	50	22	11	33
	0	0-10	0-12	0-13	0-7	0-10	0-2	0-5	0-10	0-7	0-2	0-5	0-10	0-7	0-2	0-5	0-10	0-7	0-13	0-15

В результате инокуляции семян биопрепаратами существенно снизились частота встречаемости и относительное обилие в комплексе ризосферной почвы родов *Fusarium* и *Mucor*, тогда как эти же показатели для представителей родов *Penicillium*, *Acremonium* и *Cladosporium* продолжали оставаться высокими. В структуре микромикетного комплекса ризопланы существенных перестроек под воздействием биопрепаратов не выявлено, за исключением увеличения спектра минорных компонентов комплекса, характеризующихся низкими показателями частоты встречаемости (6–11%) и/или долевого участия (0–5%). Это позволяет полагать, что оба исследуемых биопрепарата не оказали на сапротрофную микобиоту прикорневой зоны пшеницы существенного влияния, снижая в то же время представленность в ризосфере грибов рода *Fusarium* – потенциально опасных в отношении корневых инфекций.

Общее разнообразие грибов в ризосферной почве контрольного варианта колебалось на протяжении вегетации в довольно узких пределах, а в ризоплане постепенно снижалось от фазы кущения к наступлению молочно-восковой спелости растений (рис. 26).

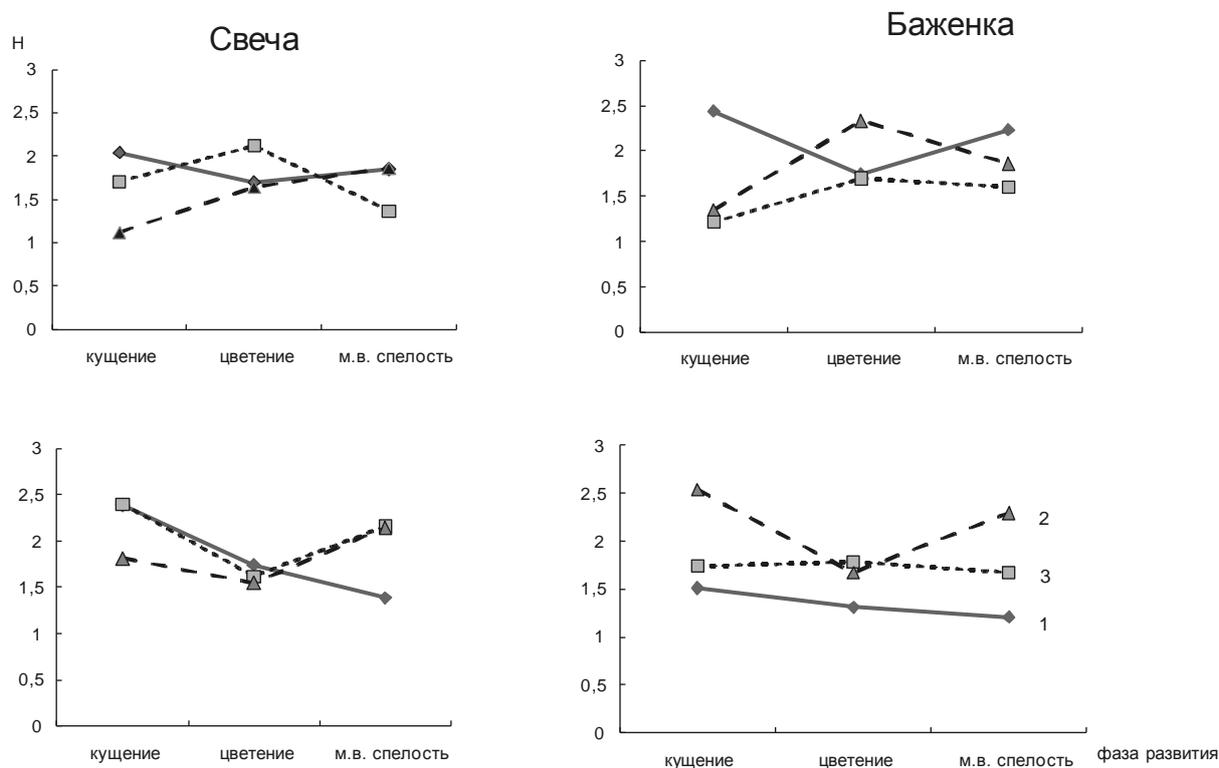


Рис. 26. Динамика разнообразия (Н) грибов в ризосферной почве (вверху) и в ризоплане (внизу) мягкой пшеницы разных сортов в зависимости от предпосевной обработки биопрепаратами. 1 – контроль (без фунгицида), 2 – Псевдобактерин-2, 3 – *S. hygrosopicus* A4

Несмотря на сходную динамику в значениях индексов разнообразия Шеннона, между сортами прослеживались определенные различия. В ризосфере сорта Баженка уровень разнообразия микромицетов был выше ( $H = 1,7-2,4$ ), а в ризоплане – ниже ( $H = 1,2-1,5$ ), чем в прикорневой зоне растений сорта Свеча ( $H = 1,6-2,0$  и  $1,4-2,9$  в ризосфере и ризоплане соответственно).

Обработка семян биопрепаратами привела в ризосферной почве обоих сортов к сокращению на 17–50% разнообразия микромицетов в начале развития растений, но к фазе цветения оно восстанавливалось до уровня контрольных растений или даже на 25–34% превосходило контроль. Как реакция на воздействие Псевдобактерина-2 наиболее выраженная динамика значений индекса разнообразия была отмечена в ризосфере сорта Баженка, а на воздействие препарата, изготовленного на основе штамма *S. hygrosopicus* A4, – в ризосфере сорта Свеча. В ризосфере растений, подвергнутых действию *S. hygrosopicus* A4, разнообразие грибов в фазу молочно-восковой спелости снижалось по сравнению с контролем более значительно (на 26–28%), чем в варианте с Псевдобактерином-2 (на 1–17%).

В ризоплане разнообразие грибов также изменялось в зависимости от вида предпосевной обработки семян и сорта. Под воздействием Псевдобактерина-2 индекс Шеннона варьировал в ризоплане обоих сортов более значительно, чем под воздействием *S. hygrosopicus* A4. Так, в начале вегетации в ризоплане сорта Свеча индекс Шеннона в результате обработки Псевдобактерином-2 был существенно ниже ( $H = 1,81$ ), а в ризоплане пшеницы Баженка, напротив, достоверно выше ( $H = 2,53$ ), чем в контроле ( $H = 2,39$  и  $1,51$  соответственно), тогда как под воздействием *S. hygrosopicus* A4 существенных отклонений от контроля в значениях индекса Шеннона ( $H = 2,40$  и  $1,74$  для Свечи и Баженки соответственно) не выявлено. В фазу цветения разнообразие микромицетов в ризоплане растений, подвергнутых обработке биопрепаратами, мало отличалось от контроля, а к концу вегетации возрастало, превосходя контрольный показатель в 1,5–1,9 (Псевдобактерин-2) и 1,4–1,6 раза (*S. hygrosopicus* A4).

Данные по численности и разнообразию микромицетов в прикорневой зоне пшеницы были сопоставлены с результатами анализа растений на заболеваемость корневыми гнилями. В целом степень развития корневых гнилей у пшеницы обоих сортов даже в контроле не достигала порога вредоносности и при обработке биопрепаратами изменялась несущественно. Однако сорт Баженка, отличающийся бо-

лее многочисленным и разнообразным ризосферным комплексом микроскопических грибов, в начале вегетации (в период всходов и начала кущения) характеризовался более низким поражением (17,5%) и развитием болезни (6%), чем растения сорта Свеча (23,8 и 10% соответственно). Это согласуется с представлениями о том, что сапротрофная микобиота, колонизируя прикорневое пространство, выступает в качестве конкурента фитопатогенных грибов и до определенной степени ограждает растения от поражения возбудителями корневых инфекций [135, 382]. Растения сорта Баженка в контрольном варианте превосходили сорт Свеча по урожаю (на 1 ц/га) и таким показателям продуктивности, как число зерен (на 39%) и масса зерна в колосе (на 32%). В связи с этим минимизация воздействия антифунгальных препаратов на сапротрофную почвенную микобиоту в системе защиты растений от заболеваний представляется особенно значимой. Более высокая численность и разнообразие комплекса микромицетов в ризосферной почве и ризоплане сорта Баженка совпадают с более высокой, в сравнении с сортом Свеча, пластичностью и адаптивностью к условиям выращивания. Сорт Свеча, уступающий по адаптивным свойствам Баженке, формирует в ризосфере микромицетный комплекс, не только менее многочисленный и разнообразный по таксономическому составу, но и менее динамичный во времени и по реакции на внешнее биотическое воздействие – интродукцию микробов-антагонистов. При использовании биопрепаратов для борьбы с корневыми инфекциями яровой пшеницы необходимо учитывать возможность проявления сортоспецифической реакции, обусловленной особенностями структуры микромицетных комплексов в ризосфере и ризоплане различных сортов, связанными, в свою очередь, с различной пластичностью и адаптивностью конкретных генотипов растений.

Для снижения потерь урожая вследствие поражения сельскохозяйственных культур фитопатогенами наряду с использованием химических и биологических средств защиты растений широко проводятся работы по созданию генетически устойчивых сортов растений. Использование искусственных инфекционных фонов – важная часть селекционного процесса при отборе устойчивых к корневым инфекциям генотипов [13, 162, 349]. Выяснение многообразных и сложных экологических связей растения как с фитопатогенами, так и с сапротрофным микробным сообществом необходимо для понимания механизмов возникновения и развития корневых инфекций. В связи с

этим мы изучали структуру комплекса микромицетов, ассоциированных с корнями озимой ржи, и выявляли изменения в его структуре под влиянием искусственного внесения в почву фузариозной инфекции.

Численность и родовой состав типичных микромицетов ризосферной почвы и ризопланы сортов озимой ржи (*Secale cereale* L.) изучали в полевом микроделяночном опыте, заложенном на дерново-подзолистой почве, характеризующейся следующими показателями: рН 4,55, обменная кислотность 0,11 мг-экв./100 г, содержание подвижного алюминия 0,58 мг/100 г, содержание  $P_2O_5$  – 154 и  $K_2O$  – 168 мг/кг почвы. Для создания искусственного инфекционного фона в почву до посева вносили зерносмесь (200 г/кв. м), инфицированную грибами *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichiella*, *F. heterosporum*, *F. nivale* в равных соотношениях по массе. Контролем служил вариант без внесения инфекционного инокулюма. Семена перед посевом в обоих вариантах протравливались байтан-универсалом 19,5% с. п. (из расчета 2 кг/т) для ограничения развития в почве семенной микобиоты.

В работе использовали сорта Вятка 2 (экстенсивного типа) и Фаленская 4 (интенсивного типа), характеризующиеся средней устойчивостью к фузариозным корневым гнилям.

Общее грибное разнообразие почвы в ризосфере озимой ржи изменялось по сезонам незначительно. Внесение в почву инфицированной зерносмеси сопровождалось снижением разнообразия. Индекс Шеннона варьировал в ризосфере контрольных растений от 1,88 до 2,05, а в ризосфере растений на инфекционном фоне – от 1,54 до 1,75 (рис. 27).

Разнообразие грибного населения в ризоплане в значительной мере определялось сортом растения. Как в контроле, так и на инфекционном фоне сезонная динамика разнообразия на корнях сорта Вятка 2 ( $H = 1,2-2,25$ ) была выражена сильнее, чем в ризоплане сорта Фаленская 4 ( $H = 1,63-2,0$ ).

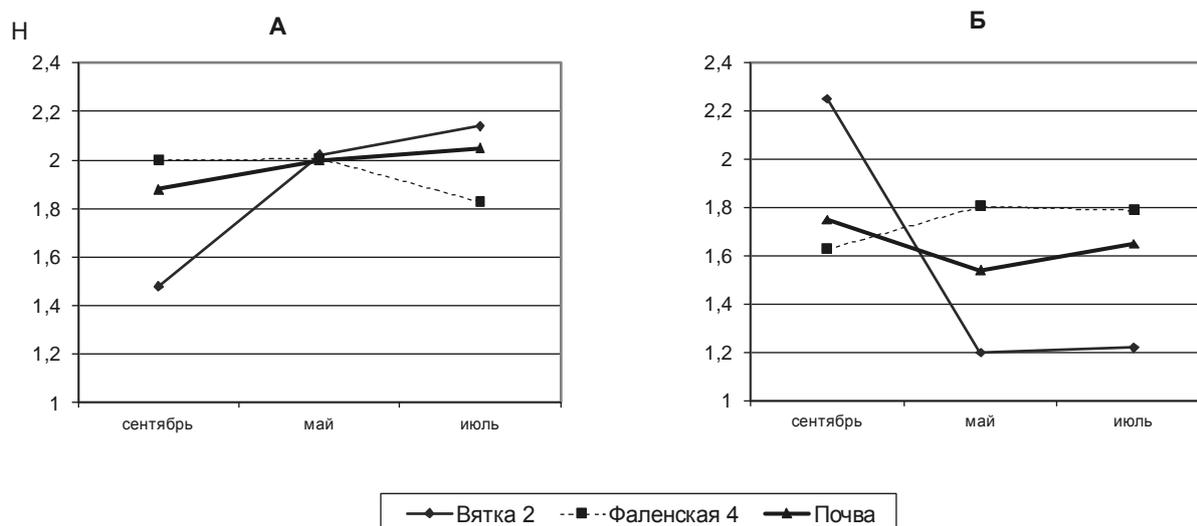


Рис. 27. Динамика разнообразия (H) грибов в ризосферной почве и в ризоплане озимой ржи различных сортов в контроле (А) и на инфекционном фоне (Б)

В процессе исследования было выделено 83 культуры микромицетов, относящихся к 12 родам. Основу грибных группировок, как в почве ризосферы, так и в ризоплане, составляли представители различных родов дейтеромицетов и быстрорастущие виды порядка Mucorales, основу питания которых составляет легкогидролизуемая органика, в изобилии присутствующая в корневой зоне активно растущих растений [292]. По частоте встречаемости и относительному обилию в комплексе доминировали микромицеты рода *Penicillium*. На долю различных видов пенициллов в ризосферном комплексе приходилось от 36% в контрольном варианте до 57% на инфекционном фоне. В комплексе ризопланы относительное обилие представителей рода *Penicillium* варьировало в зависимости от сорта, фона и срока наблюдений в более широких пределах. Высоким (30–70%) был процент обнаружения в ризосферной почве представителей родов *Acremonium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus* (рис. 28).

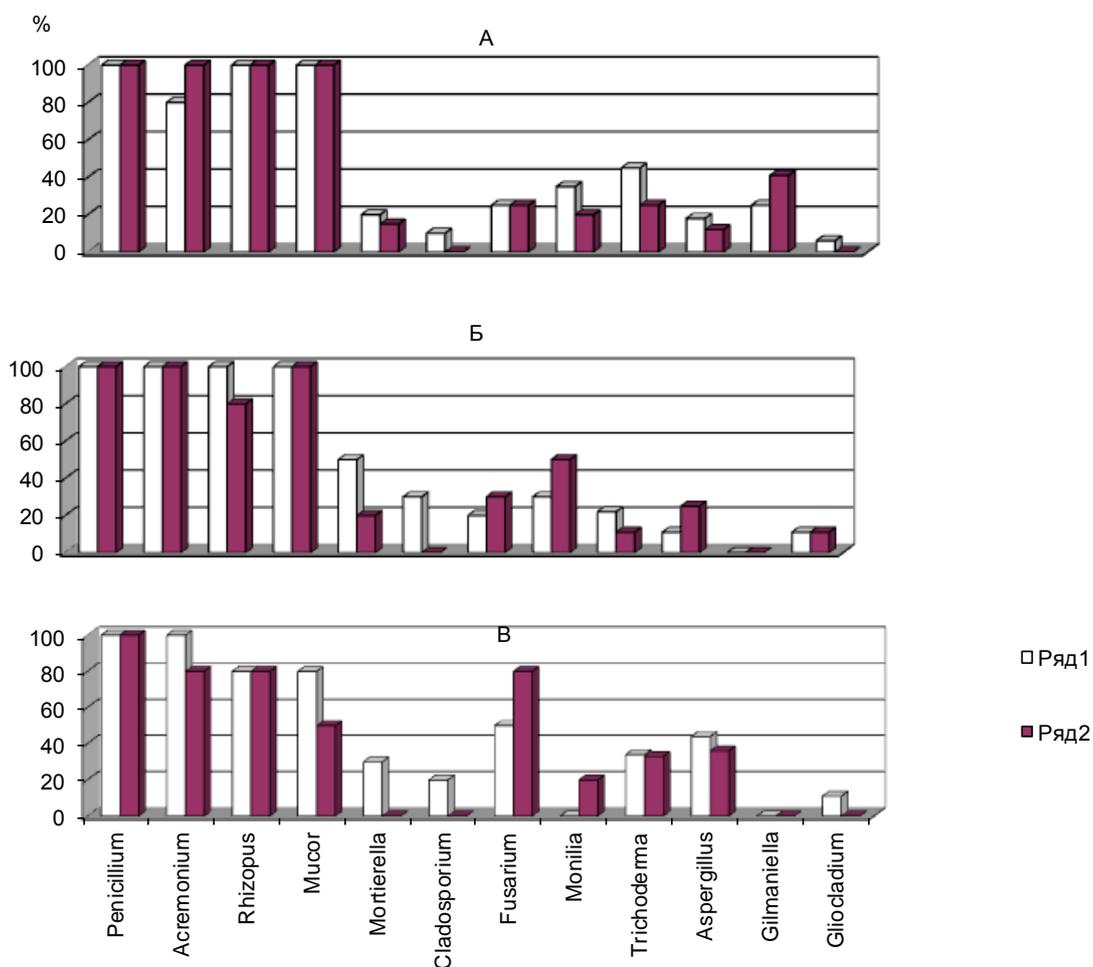


Рис. 28. Частота встречаемости представителей родов микромицетов в ризосферной почве (А), на корнях озимой ржи Вятка 2 (Б), Фаленская 4 (В) в контроле (ряд 1) и на инфекционном фоне (ряд 2)

Спектр часто встречающихся микромицетов ризопланы расширили представители родов *Cladosporium*, *Mortierella*, *Aspergillus* и *Fusarium*. Видовая представленность рода *Fusarium* на корнях озимой ржи оказалась невелика. Все изоляты, выделенные на ранних стадиях роста растений, принадлежали к виду *F. oxysporum*, и лишь в конце вегетации обнаруживались виды *F. culmorum* и *F. sporotrichiella*. К типичным редко встречающимся (10–30%) были отнесены микромицеты родов *Monilia*, *Gliocladium*. В весенний период в ризосфере озимой ржи отмечены грибы рода *Gilmaniella*.

Внесение в почву инфицированной фузариями зерносмеси практически не изменило частоту встречаемости и доленое участие рода *Fusarium* в микромицетном комплексе ризосферной почвы (табл. 33). Непосредственно на корнях растений, выращенных на инфекционном фоне, в осенний период эти показатели для видов рода *Fusarium* увеличились в зависимости от сорта в различной степени. В ризоплане сорта Вятка 2 частота встречаемости в результате внесения инфици-

рованной зерносмеси возросла с 20 до 30%, а относительное обилие представителей рода – в пять раз. В ризоплане сорта Фаленская 4, несмотря на значительное возрастание частоты встречаемости (с 50 до 80%), относительное обилие фузариев увеличилось по сравнению с контролем только в 1,5 раза. Одновременно на инфекционном фоне возросли показатели обилия для родов *Acremonium* (в ризоплане озимой ржи Фаленская 4) и *Penicillium* (в ризоплане Вятки 2). После перезимовки озимой ржи долевое участие рода *Fusarium* в микромицетных комплексах ризопланы обоих сортов снизилось до уровня контрольного варианта, а относительное обилие представителей рода *Penicillium*, напротив, увеличилось. Значительно превысило уровень контрольного варианта долевое участие пенициллов и в микромицетном комплексе ризосферной почвы.

По данным ряда авторов [151, 152, 198], многие виды рода *Penicillium* осуществляют в почве, благодаря комплексу гидролитических ферментов, процессы разложения белков, пектиновых веществ, крахмала. Полученные методом посева данные, к сожалению, не позволяют судить о функциональной активности выявляемых в прикорневой зоне микромицетов, жизненный цикл которых включает мицелиальную и спорую стадии. Мы можем лишь констатировать, что в микромицетном комплексе на искусственном инфекционном фоне – при внесении в почву дополнительного количества растительных полимеров – по сравнению с контрольным вариантом увеличивается количественная представленность пенициллов. При добавлении в почву инфицированной зерносмеси к концу вегетации озимой ржи в структуре микромицетных комплексов ризосферы и ризопланы произошли и другие изменения. В частности, сократилось по сравнению с контролем относительное обилие грибов родов *Acremonium* и *Aspergillus* (табл. 33), снизилась частота встречаемости представителей родов *Trichoderma* и *Cladosporium* (рис. 28).

Родовой состав микромицетов корневой зоны озимой ржи на дерново-подзолистой почве

Род	Обилие представителей рода, %							
	Ризосферная почва		Ризоплана Фаленской 4		Ризоплана Вятки 2			
	Контроль	Инфекционный фон	Контроль	Инфекционный фон	Контроль	Инфекционный фон	Контроль	Инфекционный фон
	Начало вегетации (сентябрь)							
<i>Penicillium</i>	36	36	53,9	49,5	11,8			33,7
<i>Acetemonium</i>	40	44,5	19	31,9	70			45
<i>Mucor</i>	8	3	5,9	3,6	5			7
<i>Rhizopus</i>	6	2	2	0	4,1			3
<i>Mortierella</i>	0,7	0	2,4	0	2,7			0
<i>Fusarium</i>	1	1,5	10,3	14,7	1,8			10,2
<i>Trichoderma</i> ,	4	7	0	0	0			0
<i>Cladosporium</i>	0,8	0	0,8	0	1,8			0
прочие	3,5	6	5,7	0,3	2,8			1,1
	Конец вегетации (июль)							
<i>Penicillium</i>	42,5	57	44	56	36			77
<i>Acetemonium</i>	11,5	5,5	35	9,8	31			3
<i>Mucor</i>	6	16,4	8	6	2			3
<i>Rhizopus</i>	4,6	10,1	2	5	2			3
<i>Fusarium</i>	9	4	2	1	14			6
<i>Aspergillus</i>	1,5	1	1	0,2	2			0
<i>Trichoderma</i>	1,5	0	0	2	10			0
<i>Cladosporium</i>	3,5	1,5	0	0	0			0
Прочие	19,9	4,5	8,0	20	3,0			8,0

Возрастание в комплексе прикорневой зоны озимой ржи на искусственном инфекционном фоне относительного обилия представителей рода *Penicillium*, среди которых описано много токсиногенных видов, способствующих развитию почвенной токсичности [255], а также ослабляющих иммунитет растений мукоровых грибов, наряду с фузариями могло внести свой вклад в снижение выживаемости и продуктивности растений по сравнению с контролем. Однако доказательства этому предположению могут быть получены только путем прямой иммунолюминесцентной микроскопии.

Полученные результаты не позволяют однозначно утверждать, что выявленное в опыте снижение выживаемости и продуктивности озимой ржи на инфекционном фоне обусловлено поражением корневых систем растений грибами рода *Fusarium*. Под воздействием искусственного внесения в почву фузариозной инфекции в дозе 200 г/м<sup>2</sup> частота встречаемости и относительное обилие фузариумов на корнях озимой ржи увеличивались лишь на ранних этапах развития растений и в ограниченных пределах. Вероятно, определенное участие в патогенном комплексе принимали и другие, традиционно считающиеся сапротрофными, виды родов *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*.

Приведенные выше примеры, описывающие реакции комплексов микроскопических грибов на те или иные воздействия, связанные с сельскохозяйственной деятельностью человека, убедительно показывают, что параметры экологической структуры грибных сообществ наряду с количественными параметрами (численность спор, длина мицелия и т. д.) хорошо отражают изменения, происходящие в почвенной микробной системе, и могут быть использованы в оценке экологического состояния земельных угодий, используемых в аграрном производстве.

## ГЛАВА 2. ЦИАНОБАКТЕРИИ КАК ТЕСТ-ОРГАНИЗМЫ

Биотестирование – обязательный прием в экологических исследованиях при определении степени загрязнения ОС и уровня токсичности тех или иных соединений. В качестве тест-объектов используются макро- и микроорганизмы различной систематической принадлежности, реакция которых на испытываемые соединения, почву, почвенную вытяжку, воду различного происхождения позволяет оценить реальную экологическую опасность. Получение оперативной информации о степени опасности загрязнителей в ОС позволяет принимать решения о путях устранения и предупреждения неблагоприятных ситуаций. Согласно Приказу № 511 Министерства природных ресурсов и экологии РФ, для подтверждения опасности тех или иных соединений рекомендуется использовать не менее двух тест-объектов из разных систематических групп. За окончательный результат принимается класс опасности, выявленный на тест-объекте, проявившем более высокую чувствительность к анализируемому образцу.

В настоящее время вопрос о выборе адекватных тест-объектов остается в значительной степени дискуссионным. Например, полагают, что сомнение вызывает тот факт, что не регламентировано положение о выборе этих двух тест-организмов, и предлагается проводить биотестирование на трех тест-организмах из трех экологических групп, различающихся по способу питания и организации [64]. Подчеркивают, что необходимо повышение воспроизводимости экотоксикологических оценок путем обоснованного выбора методов и тест-объектов, унификации методических приемов, создания банка и коллекций тест-организмов [223].

Круг организмов, используемых в качестве тест-объектов, чрезвычайно широк. Требования, которые предъявляют к ним, в общих чертах сводятся к следующим особенностям: высокая чувствительность, необходимая для выявления даже начальных обратимых экологических изменений; адекватность реакции при любом типе воздействия; удобство при лабораторном моделировании [29]. В процессе биотестирования используют подходы, отражающие популяционные, биохимические, физиологические, генетические отклики тест-организмов на воздействие среды.

Среди микробов в качестве тест-объектов используются бактерии, водоросли, микромицеты, простейшие, т. е. представители всех трофических уровней. В процессе биотестирования фиксируют раз-

личные показатели функционирования микробных клеток. В то же время любой тест-организм имеет ряд ограничений и недостатков в процессе его использования. В первую очередь, это касается трудностей в получении достоверных и воспроизводимых результатов и проявляется в большой вариабельности получаемых данных. Для устранения функциональной вариабельности тест-культур и многократной воспроизводимости результатов прежде всего предполагается разработка стандартных методов культивирования.

Ниже приводятся отдельные примеры использования в качестве тест-объектов про- и эукариотных микроорганизмов (МО), учитывая, однако, возможные недостатки и трудности при работе с определенными объектами (водорослями, бактериями, грибами).

Так, анализ основных факторов, обуславливающих высокую вариабельность ответной реакции водорослей на разнообразные факторы, показывает, что она зависит от возраста культуры, способа внесения токсиканта в культуру, вида или штамма используемых водорослей, времени суток и сезона проведения экспериментов. Однако водоросли по-прежнему активно используются в биотестировании с учетом различных показателей их жизнеспособности.

На примере зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* исследовали токсические свойства трех видов наночастиц (Ag, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>), используемых в потребительских товарах [12]. Оценку токсичности наночастиц проводили по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции, который характеризует фотосинтетическую активность растительного тест-организма. В другом опыте тестирование двухслойных наночастиц оксида меди на зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* показало, что наночастицы оксида меди диаметром менее 100 нм индуцируют агрегацию клеток и фотоингибирование фотосистемы II, повреждая хлорофилл и нарушая процесс фотосинтеза [338]. Существенное гашение флуоресценции хлорофилла происходит у другой зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* под влиянием ПАУ, что рассматривается как тест-признак интоксикации [194]. Другие изменения в статусе лабораторной культуры *Scenedesmus quadricauda*, используемой как тест-организм, были установлены при действии бихромата калия и сульфата имазазила: в зависимости от концентрации токсиканта происходят изменения структуры популяции. В присутствии низких концентраций снижение численности клеток происходит не из-за их гибели, а из-за торможения деления клеток. В присутствии высоких концентраций появляются

«сверхкрупные» клетки, в присутствии летальных концентраций преобладают «мелкие» клетки [184].

Поведение двухкомпонентного модельного сообщества про- и эукариотных водорослей (*Scenedesmus quadricauda* и *Anabaena variabilis*) при действии ионов меди изучали по изменению максимального уровня флуоресценции [25]. Проведенное биотестирование состояния изучаемых популяций показало, что происходит изменение отношения сигналов флуоресценции, возбуждаемой зеленым и синим участками спектра. Увеличение этого отношения свидетельствует о возрастании доли ЦБ, а уменьшение – об увеличении доли зеленых водорослей. Высокие концентрации ионов меди не только снижали темпы прироста, но и вызывали изменения в соотношении зеленых водорослей и ЦБ в пользу последних.

В группу лидирующих тест-организмов постоянно входят грибы. Например, при использовании микромицета *Alternaria alternata* для оценки степени токсичности лигногумата при разном обогащении среды углеводами в качестве тестовых определяли следующие показатели: накопление биомассы мицелия, скорость роста колонии и интенсивность спороношения [221]. Перспективным направлением является использование в биотестировании грибов с фиксацией такого показателя, как хемилюминесценция, поскольку реакции свободных радикалов и антиоксидантной защиты в живых системах меняются под влиянием различных факторов, сопровождающимися слабым свечением [222].

Биотестирование гриба *Trichoderma viride* на действие пестицидов показало, что использованный штамм, выделенный из почв вблизи полигона захоронения пестицидов, обладает биодиагностическим потенциалом в отношении выявления пестицидного загрязнения [121]. Критерием оценки степени загрязнения при этом служат такие показатели, как уменьшение средней скорости роста биомассы и характерная биоморфологическая реакция, которая заключалась в формировании конгломератов различной плотности.

При работе с гетеротрофными бактериями одним из перспективных экспрессных методов биомониторинга ОС считают биолюминесцентный анализ. Биолюминесцентные бактериальные биотесты дают интегральную оценку загрязнения и часто превосходят другие известные биотесты по быстрдействию, точности, чувствительности и простоте. Например, разработана технология производства биотестов на основе лиофильно высушенных природных светящихся бакте-

рий *Photobacterium phosphoreum* и рекомбинантного штамма *Escherichia coli* с клонированным геном люциферазы [188].

Инструментом для тестирования потенциально вредных соединений считают оценку индуцированного субстратного дыхания, дегидрогеназной и фосфотазной активности в эксперименте с открытой наземной модельной экосистемой и в одновременном полевом исследовании [355]. Эксперименты, проводимые в различных европейских странах: Германии, Нидерландах, Великобритании и Португалии, показали сходство контрольных значений в экспериментах в наземной модельной экосистеме и в полевых условиях, которое проявляется в ингибировании указанных выше показателей.

В последние годы было установлено, что многие задачи биомониторинга можно решить, опираясь на такую уникальную группу микрорифототрофов, как цианобактерии (ЦБ) [77, 79].

В качестве тест-организмов ЦБ отвечают практически всем требованиям, предъявляемым к подобным объектам. Виртуальное обнаружение ЦБ возможно во всех экосистемах и местообитаниях. По данным анализа ископаемых находок, ЦБ появились на Земле 3–3,5 млрд лет назад [341]. Они обладают исключительно высокой адаптируемостью к экстремальным условиям среды: промораживанию, иссушению, чередованию циклов замерзания-оттаивания, интенсивному облучению, олиготрофности и др. Геномы ЦБ начали изучать с 1996 г. в первую очередь для характеристики тех таксонов ЦБ, которые используют в модельных системах при изучении эволюции хлоропластов, глобального цикла С, циркадных ритмов, фиксации азота, фотосинтеза, симбиозов и др. Кроме того, определили время и характер эволюционной диверсификации ЦБ, в первую очередь нитчатых форм, образующих дифференцированные клетки – гетероцисты и акинеты – между 2,4 и 2,1 млрд лет назад [376].

ЦБ приписывают также ведущую роль в процессах оледенения-оттаивания нашей планеты [267]. Согласно одной из гипотез, 2,32 млрд лет назад на Земле господствовали метаногены, продуцирующие метан, который накапливался в атмосфере, обуславливая сильный парниковый эффект. Средняя температура на планете была примерно +50 °С. В атмосфере был также диоксид углерода, выделяемый вулканами, но в ограниченном количестве в результате рециклизации. В этот период благодаря деятельности ЦБ в атмосфере начинает накапливаться кислород. Он взаимодействует с  $\text{CH}_4$ , образуя  $\text{CO}_2$ , обладающий меньшим парниковым эффектом. В результате поверх-

ность Земли быстро остывает. Примерно через 1 млн лет  $\text{CH}_4$  в атмосфере кончается. Земля покрывается слоем льда толщиной в 1,5 км. При этом заледеневший океан перестает поглощать из атмосферы  $\text{CO}_2$ . Через 2,2 млрд лет благодаря накопившемуся  $\text{CO}_2$  в атмосфере снова осуществляется парниковый эффект. Земля нагревается, лед тает, восстанавливается взаимодействие и обмен газами между океаном и атмосферой. Именно ЦБ инициировали эту последовательность событий глобального масштаба. В свою очередь макромасштабное развитие ЦБ зависело от их способности к фиксации молекулярного азота с участием фермента нитрогеназы, что также являлось решающим фактором в истории формирования биосферы [293].

ЦБ служили, начиная с ранее 2,5 млрд лет назад зарегистрированными в палеонтологических летописи продуцентами, сохранившимися в неизменном виде до современности, являясь своеобразными «колодцами в прошлое» [100]. На сегодняшний день ЦБ – одна из наиболее изучаемых групп микроорганизмов, с которой связывается появление кислорода в атмосфере Земли, образование клетки как основной структурной единицы всего живого, создание генетического кода, ставшего универсальным для всех обитателей планеты. На основании метаболизма этих организмов развились два кардинальных процесса в биосфере: фотосинтез и усвоение молекулярного азота прокариотами. В основе дыхания также лежат процессы окислительного фосфорилирования, сформировавшиеся в те далекие эпохи. ЦБ, возникнув миллиарды лет назад (какая форма жизни предшествовала этому – неизвестно), преодолели условия «обнаженной» планеты, не экранированной от жесткого излучения космоса, бурной тектоники и движения материков, повторяющихся оледенений и колебания температур в океане от 0 до +90 °С. При всех этих катастрофах и катаклизмах они сохранили с тех пор до нашего летоисчисления узнаваемые морфологические особенности [168].

На действие токсикантов в моделируемых или природных условиях современные популяции ЦБ отвечают реакциями, которые легко отслеживаются по показателям видового разнообразия, количественного обилия, активности ферментов, интенсивности фотосинтеза и биохемилюминесценции, концентрации хлорофилла и феофитина, накоплению малонового диальдегида при перекисном окислении липидов. Значительное количество методик биотестирования с использованием ЦБ разработано в лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ и на кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА [29, 56].

## 2.1. Цианобактерии как тест-организмы при определении дегидрогеназной активности тетразольно-топографическим методом

Среди показателей, отражающих состояние ЦБ, одним из наиболее убедительных является жизнеспособность клеток ЦБ, определяемая по дегидрогеназной активности с использованием 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ). Это так называемый тетразольно-топографический метод [77]: «Первоисточником метода является его использование в растениеводстве для определения жизнеспособности семян. Сущность метода состоит в том, что в живых клетках ТТХ, акцептируя мобилизованный дегидрогеназой водород, превращается в кристаллы 2,3,5-трифенилформаза, имеющего красную или малиновую окраску». Результат указанной реакции в популяциях ЦБ можно наблюдать под микроскопом, дифференцируя клетки с кристаллами формаза, учитывая их как жизнеспособные, и без формаза, считая их погибшими (рис. 29).



Рис. 29. Вид клеток цианобактерий с кристаллами формаза под микроскопом (увеличение в 1320 раз)

При разработке методики использовали штаммы ЦБ из коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА: *Nostoc paludosum* Kütz, *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah., *Nostoc muscorum* (Ag.) и *Microchaete tenera* Thur, определение которых проведено согласно [51].

В музейной культуре ЦБ поддерживаются в пробирках на агаризованной среде Громова № 6 без азота. Для экспериментальной работы, как правило, их культивируют в люминостатах при 8–10-часовом дополнительном освещении в конических колбах Эрленмейера объемом 500 мл на жидкой безазотистой среде Громова № 6. Доказано, что наивысшая жизненная активность ЦБ характерна для 4–8-недельных культур. В этот период популяции ЦБ находятся на логарифмической (экспоненциальной) фазе развития, имеют минимальную численность отмерших клеток, в среде еще не накапливаются метаболиты, вызывающие аутоингибирование культуры. Использование безазотистой среды связано с тем, что все испытываемые штаммы ЦБ являются азотфиксаторами и не нуждаются для своей жизни в связанных соединениях азота.

Наша методика включала следующие этапы работы [79]:

«1. Подготовительный этап сводился к наращиванию необходимой биомассы ЦБ путем внесения инокулята в стерильную питательную среду с последующей экспозицией в люминостате.

2. Для работы с токсикантами образовавшуюся биопленку ЦБ разбивали на гомогенизаторе Homogenizertype 302 (9000 оборотов в минуту), так как в жидкой среде все испытанные штаммы по мере роста приобретают текстуру в виде псевдоткани, состоящей из переплетенных трихомов и нитей. Работа с ненарушенной биопленкой очень затруднена, доступ токсикантов к отдельным клеткам неравномерный, и при микроскопировании мазков невозможен просмотр препарата в одной плоскости. Мы выбрали такой режим гомогенизации, при котором разрушалась перидерма трихомов, достигался выход отдельных нитей, но не повреждались отдельные клетки.

3. В приготовленной суспензии подсчитывали титр клеток и в случае необходимости разбавляли дистиллированной водой до нужной концентрации.

4. Полученную однородную суспензию подвергали центрифугированию на центрифуге Highspeedcentrifugetype 310 в том объеме

культуры, который в дальнейшем использовался для закладки одного варианта опыта.

5. Среда, в которой выращивали ЦБ, сливалась после центрифугирования, и концентрат клеток помещали в испытуемый токсикант, в ту емкость (колбы или пенициллиновые пузырьки), в которых проводили дальнейшую экспозицию с токсикантом.

6. Экспозиция культур на свету продолжалась в течение 19–20 часов, затем несколько раз проводили отмывку культуры ЦБ от токсиканта путем центрифугирования или дистиллированной водой, или средой Громова в зависимости от цели опыта.

7. В оставшуюся после промывания массу цианей добавляли 0,075%-ный раствор ТТХ и выдерживали три часа.

8. Готовили мазки на предметных стеклах (3-кратная повторность из каждого варианта) и с помощью иммерсионного микроскопа просчитывали не менее 500 клеток в каждой повторности, дифференцируя клетки с ярко красными кристаллами формазана внутри (считая их жизнеспособными с выраженной дегидрогеназной активностью) и клетки без кристаллов (считая их неактивными и нежизнеспособными)».

В ходе эксперимента на токсичность в водном растворе испытывали соли свинца (Pb), мышьяка (As) и метилфосфоновой кислоты (МФК) [29].

В первой серии опытов токсикант (ацетат свинца) вносился непосредственно в среду Громова, в которой популяция отмывалась после центрифугирования. Выбранные концентрации соответствовали 100, 1000, 100000 и 200000 ПДК (30, 300, 30000, 60000 мг/л) по свинцу для водной среды. В ходе экспозиции культуры в течение 20 часов уже визуальный осмотр контрольных и опытных колб показал резкое различие в окраске растворов. Так, в контрольном варианте и при 100 ПДК окраска была ярко-красной, 1000 ПДК – розовая, 100 000 ПДК – бледно-розовая и при 200000 – полное отсутствие окраски. Данные внешнего осмотра полностью соответствуют результатам микроскопического исследования, которые приведены в таблице 34 [29].

Таблица 34

Влияние свинца на жизнеспособность клеток *Nostoc paludosum* (%)  
при экспозиции в среде Громова

Вариант	Клетки с кристаллами	Клетки без кристаллов
Контроль	98,09±0,62	1,90
100 ПДК	95,79±0,91	4,21
1000 ПДК	82,08±7,05	17,92
100 000 ПДК	5,99±1,9	94,01
200 000 ПДК	3,35±1,9	96,65

Как видно из табл. 34, повышение концентрации Pb приводит к резкому снижению дегидрогеназной активности клеток. Замена при отмывании и экспозиции питательной среды Громова дистиллированной водой понижала устойчивость клеток к токсиканту (табл. 35) [29].

Таблица 35

Влияние свинца на жизнеспособность клеток *Nostoc paludosum* (%)  
при экспозиции в дистиллированной воде

Вариант	Клетки с кристаллами	Клетки без кристаллов
Контроль	91,47±1,5	8,54
100 ПДК	88,2±3,16	11,8
1000 ПДК	18,45±4,59	81,55
10000 ПДК	17,07±6,74	82,92
50000 ПДК	11,12±1,6	88,87
100000 ПДК	4,93±0,34	95,06

Сравнение результатов, приведенных в таблицах 34 и 35, показывает, что клетки популяции ЦБ в том случае, когда экспозиция происходит не в питательной среде, а в дистиллированной воде, более чувствительны к действию токсиканта. Поэтому при диагностике загрязнения природных сред (почвенной вытяжки, воды) желательно использовать воду для отмывания при центрифугировании и экспозиции выбранного титра клеток. Данный показатель (титр клеток) также играет существенную роль в чувствительности клеток к токсиканту, что было выявлено при действии одной и той же концентрации свинца на популяцию *N. paludosum* с разным титром (табл. 36) [29, 164].

Таблица 36

Влияние титра клеток *Nostoc paludosum* на выживаемость (%)  
в растворе ацетата свинца (100 ПДК Pb)

Титр клеток/мл	Клетки с кристаллами	Клетки без кристаллов
$2,21 \cdot 10^8$	88,2±3,16	11,8
$2,21 \cdot 10^7$	44,55±2,1	55,44
$4,42 \cdot 10^6$	21,6±3,7	78,37
$2,21 \cdot 10^6$	11,17±0,18	88,83

Плотность популяции является существенным фактором, обеспечивающим ее устойчивость во внешней среде. Это может быть связано с экссудацией слизистых метаболитов, которые являются одним из механизмов удержания и обезвреживания токсикантов. Поэтому в целях повышения чувствительности популяции ЦБ в качестве организмов-биотестов необходимо дополнительно к экспозиции в воде использовать существенные разбавления гомогенизированной популяции не менее чем в 100 раз, добиваясь плотности клеток в пределах 1–2 млн/мл [29, 231].

В другой серии опытов в качестве токсиканта использовался хлорид мышьяка. Соединения мышьяка являются продуктами разложения таких видов химического оружия, как люизит и двойные иприт-люизитные смеси, и потенциально могут оказаться в почве в ходе эксплуатации объектов хранения и уничтожения химического оружия. Выявлена тенденция снижения жизнеспособности клеток по мере увеличения концентрации мышьяка (табл. 37) [29, 123].

Таблица 37

Влияние мышьяка на жизнеспособность клеток *Nostoc paludosum* (%)

Вариант (As, мг/мл)	Клетки с кристаллами	Клетки без кристаллов
Контроль (вода дистиллированная)	93,93±93	6,07
$10^{-4}$	94,59±2,05	5,41
$10^{-3}$	95,43±4,8	4,57
$10^{-2}$	25,48±7,31	74,52
$10^{-1}$	0	100

При концентрации As 0,1 мг/мл клетки ЦБ полностью утрачивают дегидрогеназную активность. Таким образом, *N. paludosum* может быть использован в качестве тест-организма на наличие данного поллютанта в окружающей среде [29].

Одним из токсикантов, который может оказаться в ОС, является метилфосфоновая кислота (МФК), конечный продукт разложения в природных средах многих фосфорорганических соединений. Опыты, проведенные с *N. paludosum* ЦБ при экспозиции клеток ЦБ с МФК в среде Громова и дистиллированной воде, выявили такую же тенденцию, как и по свинцу: жизнеспособность клеток существенно выше с использованием питательной среды, и, наоборот, повышается процент нежизнеспособных клеток при их экспозиции с токсикантом в воде (табл. 38) [29, 164].

Таблица 38

Влияние МФК на гибель клеток *Nostoc paludosum* (%) при экспозиции в среде Громова и воде

Вариант (МФК, моль/л)	Среда Громова	Дистиллированная вода
Контроль	0,96	24,8
$10^{-4}$	1,61	30,6
$10^{-3}$	90,03	97,6
$10^{-2}$	100	100

На выживаемость клеток в растворе МФК оказывает влияние и титр клеток, а именно: устойчивость популяции понижается с понижением плотности клеток (табл. 39) [29].

Таблица 39

Влияние титра *Nostoc paludosum* на выживаемость (%) популяции в растворе МФК с концентрацией  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л

Титр <i>N. paludosum</i> , кл./мл	Жизнеспособные клетки	Нежизнеспособные клетки
$2,21 \cdot 10^8$	98,39±1,29	1,61
$2,21 \cdot 10^7$	91,7±2,14	7,15
$4,42 \cdot 10^6$	88,41±3,17	11,59
$2,21 \cdot 10^6$	70,04±16,4	29,96

Следующая серия опытов была связана с выявлением наиболее чувствительных видов цианобактерий к МФК. Характеристика испытуемых штаммов была приведена выше. Результаты тетразолюно-топографического метода определения жизнеспособности клеток приведены в таблице 40 [29, 126].

Влияние МФК ( $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л) на жизнеспособность (%) клеток различных видов цианобактерий

Вид цианобактерий	Клетки с кристаллами	Клетки без кристаллов
<i>Nostoc paludosum</i>	91,56±2,07	8,44
<i>Nostoc linckia</i>	79,27±2,54	20,73
<i>Nostoc muscorum</i>	78,65±12,4	21,35
<i>Microchaete tenera</i>	70,5±6,0	29,50

Исходя из полученных результатов, шкала толерантности испытанных видов колеблется в пределах 20% выживаемости. Для МФК наиболее чувствительным видом оказалась *M. tenera*, а наиболее стойким – *N. paludosum*. Два других вида ностока занимают место между этими полюсами и обладают практически одинаковой стойкостью к МФК [29].

Таким образом, любой из четырех штаммов ЦБ может быть использован в биотестировании с применением тетразольно-топографического метода.

## 2.2. Исследование степени токсичности различных искусственно синтезированных соединений

В настоящее время в природной среде циркулирует обширный круг соединений, искусственно синтезированных человеком. При этом для многих из них не установлены ПДК и, следовательно, не проводится мониторинговых исследований по определению степени их токсичности. В частности, к числу безопасных соединений до последнего времени относились отходы производства фторопластов, например, такие как маточные растворы производств фторкаучуков марки СКФ-26, которые попадают в окружающую среду вместе со сточными водами химических предприятий. В них содержится от 0,02 до 0,05% целевого продукта [60].

При воздействии возрастающих концентраций СКФ-26 на клетки *N. paludosum* было установлено, что все они в той или иной степени являются токсичными [92]. Маточный раствор СКФ-26 и его концентрация 1:1 вызвали 100%-ную гибель клеток ЦБ (рис. 30). 30%-ная гибель клеток наблюдалась при разведении 1:50. В то же время СКФ-26 в разведении 1:100 приводил к незначительному снижению численности живых клеток, т. е. в подобной концентрации в водной среде соединение можно признать малотоксичным для используемого тест-организма.

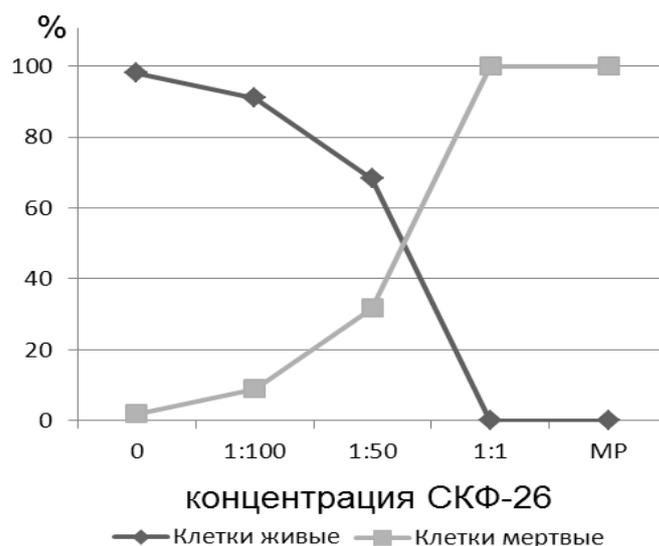


Рис. 30. Влияние возрастающих концентраций СКФ-26 на жизнеспособность клеток цианобактерии *Nostoc paludosum* (%)

Среди поллютантов, попадающих в ОС, существенное место принадлежит синтетическим поверхностно-активным веществам (СПАВ), которые входят в состав моющих средств и, в частности, автошампуней. В серии опытов мы впервые определяли токсичность 3-х марок автошампуней (Концентрат, Felix и Uni) в концентрациях, рекомендуемых для мытья автомобилей в качестве тест-культур использовали два вида ЦБ. Было установлено, что все три испытуемых автошампуня резко снижают численность живых клеток. При этом репрессивная активность автошампуней Felix и Uni достигает у *Fischerella muscicola* 98,5 и 99,2% соответственно (табл. 41). Устойчивость *N. paludosum* при действии любого автошампуня существенно выше, чем у фишереллы. В контроле число нежизнеспособных клеток всего 1,0% для *F. muscicola* и 2,9% для *N. paludosum* [201].

Исходя из результатов опыта, можно предположить, что у различных видов ЦБ имеются различные механизмы адаптации к СПАВам. Сильнейшим ингибирующим эффектом по отношению к ЦБ обладает автошампунь Uni, вызывающий почти полную гибель популяций ЦБ. Результаты проведенных исследований с использованием ЦБ показывают, что применение СПАВ в виде автошампуней для мойки автомобилей может представлять весьма существенную опасность для водной и почвенной биоты.

Таблица 41

Количество жизнеспособных и нежизнеспособных клеток в популяциях цианобактерий *Nostoc paludosum* и *Fischerella muscicola* (%)

Вариант	Контроль (вода)		Автошампунь					
	Количество жизнеспособных клеток	Количество нежизнеспособных клеток	Концентрат		Felix		Uni	
			Количество жизнеспособных клеток	Количество нежизнеспособных клеток	Количество жизнеспособных клеток	Количество нежизнеспособных клеток	Количество жизнеспособных клеток	Количество нежизнеспособных клеток
<i>N. paludosum</i>	97,1	2,9	28,2	71,2	0,6	99,4	0,3	99,7
<i>F. muscicola</i>	99,0	1,0	5,6	94,4	1,5	98,5	0,8	99,2

Наиболее чувствительным тест-организмом по отношению к испытуемым автошампуням оказалась ЦБ *F. muscicola*, которую в дальнейшем можно успешно использовать для определения степени токсичности и других СПАВ.

ЦБ *F. muscicola* оказалась подходящим тест-объектом и при испытании степени токсичности метилфосфоновой кислоты (МФК): ее возрастающие концентрации приводили к стремительному падению числа живых клеток в культуре фишереллы (табл. 42) [231].

Таблица 42

Влияние МФК на жизнеспособность клеток *Fischerella muscicola* (%)

Вариант	Клетки живые	Клетки мертвые
Вода	96,6	3,4
МФК $10^{-3}$ моль/л	62,3	37,7
МФК $10^{-2}$ моль/л	1,5	98,5

О степени чувствительности разных видов к действию поллютантов можно судить по результатам серии опытов, в которых в качестве токсикантов выбраны соединения природного происхождения и искусственно синтезированные, широко циркулирующие в ОС вследствие деятельности человека: ацетат свинца, сульфат меди; хлорид натрия (все природного происхождения); бензин 92-й марки и гербицид трефлан (искусственного происхождения) [164].

Концентрации поллютантов соответствовали 5 ПДК для ТМ, для бензина и хлорида натрия – 5% от объема культуральной среды, для

трефлана была выбрана производственная доза – 0,2% [105]. Показано, что эффект действия изучаемых веществ проявился в существенной гибели клеток (табл. 43).

Таблица 43

Влияние токсикантов на гибель клеток в популяциях цианобактерий

Вариант	Количество нежизнеспособных клеток, %		
	<i>N. paludosum</i>	<i>N. linckia</i>	<i>N. muscorum</i>
1. Контроль	0,94	2,96	14,61
2. Pb	14,87	78,45	100
3. Cu	100	100	100
4. NaCl	78,29	73,03	96,06
5. Трефлан	91,23	16,42	38,95
6. Бензин	100	100	100

Полную гибель популяций всех трех видов ЦБ вызвало действие ионов меди и бензина. При этом микроскопирование показало, что под влиянием меди нити и клетки ЦБ сохраняют свои структурные особенности, размеры, форму, но без сохранения ими дегидрогеназной активности. Иная картина наблюдается в варианте с внесением бензина. Вместо клеточных структур – аморфная, лишенная пигментации хлопьевидная масса [82, 84, 105].

По отношению к другим токсикантам ЦБ ведут себя по-разному. Так, только для *N. muscorum* оказался токсичным свинец (летальный исход – 100%). Велика чувствительность к данному ТМ и *N. linckia* (погибло более 78% клеток). Но в то же время можно отметить чрезвычайно высокий уровень резистентности к свинцу *N. paludosum*, гибель клеток которого составила всего около 15% (табл. 43). Сильнейший ингибирующий эффект на все три вида ЦБ оказал хлорид натрия, под влиянием которого погибает 73–96% клеток. Очень сильно различаются виды по устойчивости к треплану: *N. linckia* > *N. muscorum* > *N. paludosum* (что соответствует гибели клеток: 16,4% – 38,9% – 91,2%) [82, 84, 105].

Исходя из полученных результатов, можно предположить наличие у разных видов ностока различных механизмов адаптации как к одному и тому же токсиканту, так и к разным соединениям. Выявление различной чувствительности разных видов ностока к поллютантам, циркулирующим в ОС, дает теоретическую базу создания на их основе биопрепаратов избирательного действия по отношению к формам и видам техногенного загрязнения почвы. Так, *N. paludosum* можно использовать при обработке семян и ремедиации почв, загряз-

ненных свинцом. *N. linckia* перспективен при детоксикации трефлана, а *N. paludosum* обладает сверхчувствительностью к этому гербициду. При мониторинге состояния окружающей среды на наличие в ней меди или бензина тестирующую роль могут играть все испытанные виды ЦБ. *N. muscorum* в первую очередь чувствителен как тест-организм на свинцовое загрязнение среды [82, 84, 105].

### **2.3. Использование цианобактерий для тестирования почвенных вытяжек**

Наиболее интересные и практически значимые результаты биотестирования тетразольно-топографическим методом можно получить при работе с почвенными вытяжками. Не отменяя и не подменяя химический анализ почв, биотестирование дает быстрый и четкий ответ о состоянии почвы в исследуемом районе, особенно если исследуемый объект является потенциально экологически опасным. Наши исследования были проведены с образцами почвы, отобранными на территориях, прилегающей к химическому комбинату, и в зоне действия полигона захоронения ядохимикатов. Для сравнения исследовали почвенную вытяжку серии модельных опытов, в которых в течение трех месяцев изучали действие пестицидов старого и нового поколений на почвенную микрофлору. В качестве тест-организма использовали ЦБ *Nostoc muscorum*.

Определение жизнеспособности клеток ЦБ в почвенной вытяжке в модельном опыте показало, что испытываемые пестициды обладают различной степенью токсичности по отношению к *N. muscorum* и располагаются в ряд: ДДТ > Гексохлорбензол = Круйзер > Симазин = Дивиденд стар > Гербитокс = Пивот (рис. 31). Следовательно, в группу наиболее опасных пестицидов попадают не только старые, запрещенные к применению ДДТ и гексохлорбензол, но и пестициды нового поколения – Круйзер и Дивиденд стар, в то время как гербициды Гербитокс и Пивот оказывают на почву минимальный токсический эффект [27, 28].

Для оценки состояния окружающей среды в районе полигона захоронения ядохимикатов было заложено восемь площадок мониторинга. При сравнении соотношения живых и мертвых клеток в популяции ЦБ *N. muscorum* установлено, что максимальной токсичностью обладает почва с участка № 1 (более 80% нежизнеспособных клеток). Среди

других участков наиболее токсичны площадки мониторинга № 3, 4, 6, где количество погибших клеток ЦБ превышает 30% (рис. 32) [28].

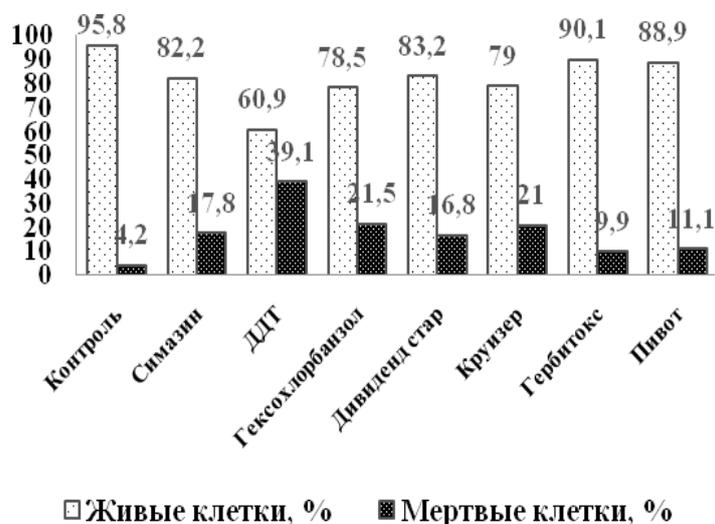


Рис. 31. Определение степени токсичности почвы после применения пестицидов с использованием ЦБ *N. muscorum*

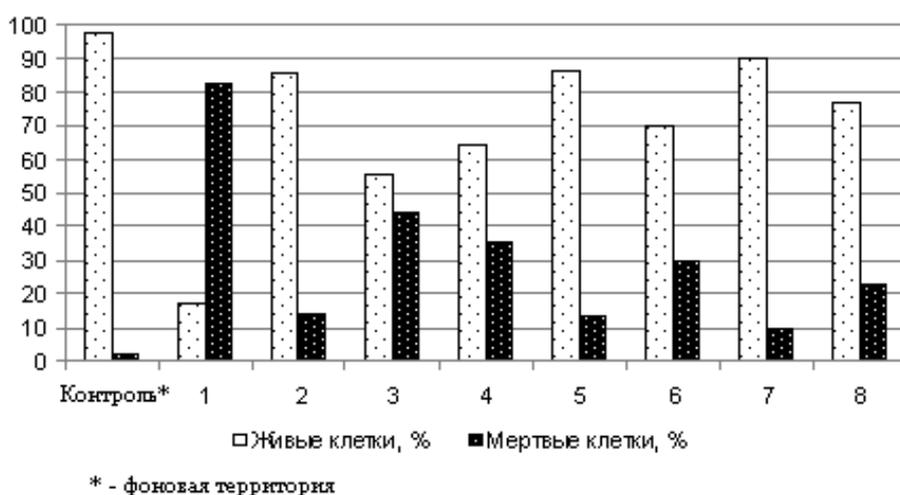


Рис. 32. Определение степени токсичности почвы в зоне полигона захоронения пестицидов с использованием ЦБ *N. muscorum*

В зоне действия химического комбината почвенные образцы отбирали с восьми участков. Тест-организмом была ЦБ *N. linckia*. Проведение химического анализа показало, что в данном случае загрязнителями природного комплекса являются фторид-, нитрат-ионы, катионы аммония, ионы ТМ. При биотестировании на двух участках отмечена 100%-ная гибель клеток ЦБ (рис. 33). Самые чистые участки № 904 и 921, где гибель клеток составляла не более 10% [69].

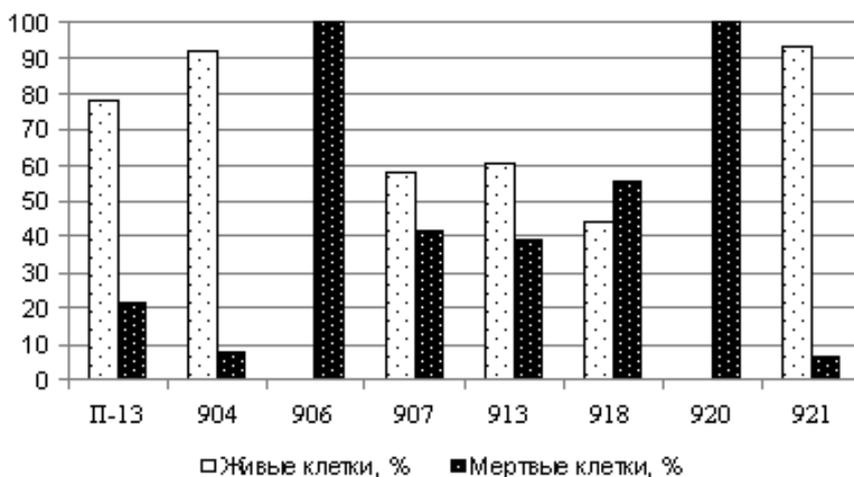


Рис. 33. Определение степени токсичности почвы в зоне действия химического комбината с использованием ЦБ *N. linckia*

Таким образом, использование разных видов ЦБ позволяет получить оперативную информацию о степени загрязнения почвы различными токсикантами. Данный метод биотестирования определяет первоочередность химического анализа самых загрязненных участков для выявления конкретных загрязнителей и их концентрации в почве.

Оценку степени токсичности почвенных вытяжек различных зон г. Кирова проводили с помощью 4-недельных альгологически чистых культур ЦБ р. *Nostoc* (*N. paludosum*, *N. linckia*, *N. muscorum*): с этой целью почвенные образцы отбирали в транспортной, промышленной и парковой зонах города [82, 84, 105]. Индекс токсичности почвенных образцов вычисляли по методике [108]. В ходе проведенного исследования было установлено, что, во-первых, различные виды ностока обладают различной степенью чувствительности по отношению к химическим компонентам почвенной вытяжки и, во-вторых, уровень токсичности почвы в разных зонах города различен (табл. 44).

Таблица 44

Гибель клеток цианобактерий р. *Nostoc* в почвенной вытяжке из различных зон г. Кирова (%)

Вид цианобактерий	Контроль	Зоны города		
		транспортная	промышленная	парковая
<i>N. paludosum</i>	1,89	19,13–25,23	4,70–25,77	12,37
<i>N. linckia</i>	1,53	13,10–20,67	5,47–17,33	15,85
<i>N. muscorum</i>	1,10	15,45–18,15	18,37–98,19	16,75

Примечание. В контрольном варианте определяли число нежизнеспособных клеток в чистой культуре ЦБ, которую в дальнейшем использовали для целей биотестирования.

Известно, что если в ходе биотестирования различные организмы дают разную картину состояния обследуемого объекта, то степень токсичности определяют по наиболее чувствительному тест-организму. В нашем случае таким тест-организмом является *N. muscorum*, у которого отмечена повышенная гибель клеток в почве промышленной зоны, вплоть до 98,19% в районе биохимзавода. В то же время чувствительность к загрязнению почвы у всех испытанных штаммов ЦБ в транспортной и парковой зонах примерно одинаковая. Вероятно, *N. muscorum* обладает специфической восприимчивостью к каким-то поллютантам минеральной или органической природы, которые накопились вблизи данного предприятия, являющегося одним из главных загрязнителей атмосферного воздуха г. Кирова [82, 84, 96].

Вычисление индекса токсичности городских почв показывает, что по данному показателю, определенному с помощью ЦБ р. *Nostoc*, исследуемые почвы относятся к разным категориям (табл. 45).

Таблица 45

Индекс токсичности городских почв

Зоны города	Виды ностоков		
	<i>N. paludosum</i>	<i>N. linckia</i>	<i>N. muscorum</i>
Транспортная	0,76–0,89	0,80–0,86	0,83–0,85
Промышленная	0,75–0,98	0,87–0,96	<b>0,02–0,82</b>
Парковая	0,89	0,85	0,84

Как правило, определение индекса токсичности (ИТ) сопровождается описанием эффекта, который приводит к определению класса токсичности [108]. Эффект признается как стимулирующий, если ИТ > 1,1 (6-й класс токсичности); норма – при ИТ = 0,91–1,1 (5-й класс); низкая токсичность при ИТ = 0,71–0,90 (4-й класс); средняя токсичность при ИТ = 0,5–0,7 (3-й класс); высокая – при ИТ < 0,5 (2-й класс) и сверхвысокая при полной гибели клеток (1-й класс токсичности).

Наши результаты показывают, что по индексу токсичности почву в районе биохимзавода следует признать сверхтоксичной (в табл. 45 результат ИТ = 0,02 выделен жирным шрифтом) по итогам тестирования с помощью *N. muscorum*. Все остальные полученные показатели ИТ практически свидетельствуют о низкой токсичности исследуемых почв.

Дальнейшая серия опытов была связана с поисками путей усовершенствования методики биотестирования с использованием ЦБ на основе определения их дегидрогеназной активности.

#### **2.4. Применение тетразольно-топографического метода и метода количественного определения содержания формазана при биотестировании с использованием цианобактерий**

Как было описано выше (разделы 2.1–2.3), для оценки уровня загрязнения среды реально использовать тетразольно-топографический метод, который заключается в том, что в качестве маркерных признаков жизнеспособности клеток выбирается показатель образования в клетках кристаллов формазана красного цвета из бесцветного ТТХ. Образование формазана индуцируется деятельностью фермента дегидрогеназы, который работает в живых клетках и инактивируется в клетках погибших. Данный метод неоднократно использовался нами для определения степени токсичности поллютантов [29]. Однако тетразольно-топографический метод, давая представление о соотношении живых и мертвых клеток в популяции цианобактерий при действии загрязняющих веществ, не дает количественной оценки содержания формазана, который накапливается в живых клетках после проведенных реакций [56]. В то же время именно концентрация формазана, вероятно, будет являться наиболее объективной характеристикой устойчивости тест-организма к внешнему воздействию. Предпринимаются попытки модификации методики в сторону ее совершенствования со спектрофотометрическим определением содержания формазана [165, 228, 229].

Для сравнения их эффективности в опыте одновременно применяли два метода: тетразольно-топографический и спектрофотометрический. Тест-организмом была культура ЦБ *N. linckia*. В качестве поллютанта – соли меди и никеля с концентрацией 2 и 20 мг/дм<sup>3</sup>. Титр штамма в исследовании составлял  $1,6 \cdot 10^8$  кл./мл. При определении жизнеспособности клеток тетразольно-топографическим методом было установлено, что возрастание концентрации ТМ практически не влияет на жизнеспособность клеток; вероятно, это связано с высоким титром исследуемого штамма (рис. 34). Доказано, что ионы меди более токсичны для ЦБ по сравнению с ионами никеля [56, 165].

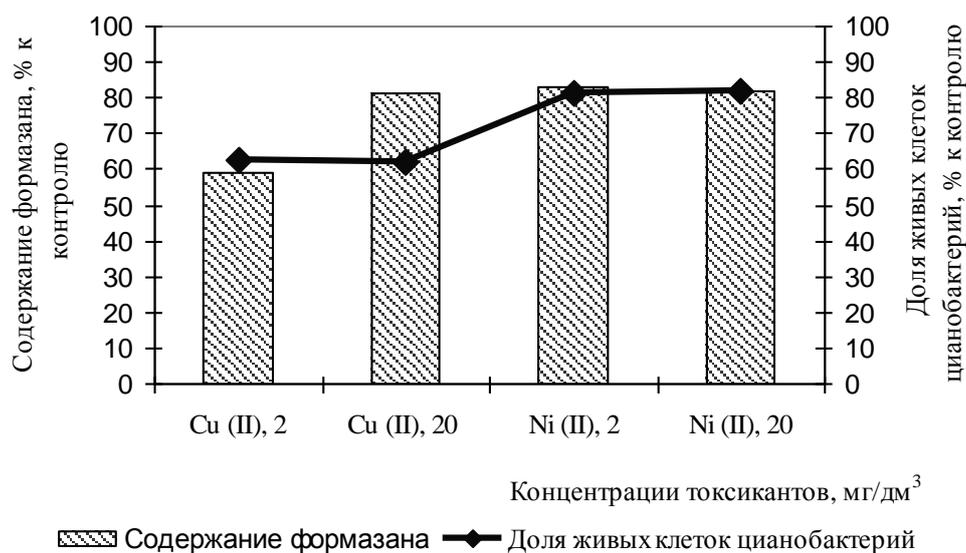


Рис. 34. Влияние ионов никеля и меди на жизнеспособность клеток *Nostoc linckia* в накоплении формазана

Количественное определение формазана в культуре ЦБ показало, что под влиянием ТМ происходило его снижение в клетках ностока от 20 до 40% по сравнению с контролем (рис. 34). Выявлена тесная корреляция между результатами по оценке токсичности ТМ для ЦБ, полученными разными методами ( $R = 0,82$ ) [56, 165].

В целом при использовании ЦБ в качестве тест-организмов для оценки степени загрязнения ОС ТМ правомочно применение обоих методов: определение жизнеспособности клеток методом ТТХ и количественное определение формазана [56].

Однако такой способ реализации методики не всегда успешен. Например, количество формазана может быть больше в том варианте, где кристаллы образовались в 10% клеток, чем в варианте, где кристаллы образовались в 80% клеток, за счет того, что кристаллы в варианте с их меньшим количеством значительно крупнее тех, что в варианте с большим количеством формазансодержащих клеток.

В следующей серии опытов была предпринята попытка преодоления недостатков обоих вариантов метода биотестирования по накоплению формазана [229, 231]. С этой целью был проведен ряд исследований по совершенствованию данного метода в направлении сокращения времени биотестирования и уточнения таких его параметров, как вид, титр и возраст культур ЦБ, степень фрагментации нитей, физические факторы, установка метрологических характеристик методики, апробация усовершенствованной методики.

## 2.5. Пути совершенствования методов цианобактериального биотестирования при исследовании токсичности различных соединений

В первой серии опытов *N. paludosum* с титром  $2 \cdot 10^7$  кл./см<sup>3</sup> использовали для исследования токсичности растворов сульфата меди (II) и гербицида Базагран (из класса триадиазинов) с концентрацией действующего вещества 0,1; 1 и 2 ПДК (ПДК для меди составляет 1 мг/дм<sup>3</sup>, гербицида – 0,01 мг/дм<sup>3</sup>) в виде растворов индивидуальных веществ и аналогичных растворов, но с добавлением сильного биопротектора – восстановленного глутатиона (GSH) в концентрациях  $2 \cdot 10^{-3}$ ;  $2 \cdot 10^{-2}$ ; 0,04 мг/дм<sup>3</sup> соответственно. Культуру выдерживали сутки в растворах токсикантов, отмывали дистиллированной водой и заливали 0,075%-ным раствором ТТХ. Суспензию ЦБ, залитую раствором ТТХ, помещали в камеру, где поддерживали постоянную температуру, равную 27 °С, и при освещенности 4500 лк. Каждые 20 минут с начала экспозиции методом микроскопирования на мазках контрольного варианта устанавливали степень образования кристаллов формазана, которые начинали появляться уже через 20 минут, однако представляли собой едва заметные вкрапления в клетках ЦБ. Хорошо фиксируемые визуально кристаллы образуются в течение 40 минут. Формирование крупных кристаллов происходит к 60-й минуте. Более продолжительное выдерживание в ТТХ не влияет на результат анализа. Освещенность в камере играла важную роль в протекании реакции, так как при освещении 1500–2000 лк реакция проходила не менее трех часов, а зачастую нужный эффект достигался через сутки, что значительно снижало экспрессность методики [229, 231].

Кроме того, выявлено, что повышение температуры до 27 °С и освещенности до 4500 лк позволяет существенно снизить продолжительность экспозиции микроорганизмов не только с ТТХ, но и с исследуемым раствором (достаточно 3-часовой экспозиции) [231]. Таким образом, общая продолжительность токсикологического исследования тетразолюно-топографическим методом составляет около 5–6 часов, что вполне приемлемо для реализации в течение одного рабочего дня.

Удалось установить, что раствор соли меди значительно токсичнее гербицида Базагран. Однако не следует забывать, что ПДК гербицида в 100 раз меньше, чем у ионов меди(II), и по абсолютному значению концентрации можно предположить, что Базагран окажет влияние сильнее ионов меди.

При увеличении концентрации обоих токсикантов уменьшается жизнеспособность культуры (табл. 46). Примененная методика позволяет фиксировать токсичность растворов, в которых концентрация выше значения ПДК, а для ионов меди и при 0,1 ПДК. Присутствие GSH положительно сказывается на жизнеспособности в случае с медью, а в вариантах с гербицидом, наоборот, она снижается. Если сравнивать результаты, полученные методом прямого счета под микроскопом и спектрофотометрическим определением количества образующегося формазана, то следует отметить наличие зависимости между значениями жизнеспособности и количеством образующегося в клетках формазана в вариантах с медью. С гербицидом такая зависимость существует только в вариантах без GSH. Следует отметить одну очень важную для методики биотестирования особенность – по результатам спектрофотометрического определения для вариантов с солями меди не удается выявить токсичность ни в одном случае. Для вариантов с базаграном, наряду с отсутствием данных по жизнеспособности, не показывающих токсичность, все варианты оказываются токсичными.

Таблица 46

Влияние состава раствора на жизнеспособность культуры почвенных цианобактерий

Вариант	Жизнеспособность, %	Формазан, мкг/0,1 мг ЦБ
Контроль (вода)	91,00±3,50	26,26
Cu		
0,1 ПДК Cu	43,75±2,18	30,64
1 ПДК Cu	28,50±1,40	22,07
2 ПДК Cu	11,20±0,56	20,93
0,1 ПДК Cu+ GSH	53,90±2,70	39,20
1 ПДК Cu+ GSH	45,30±2,30	38,63
2 ПДК Cu+ GSH	40,80±2,10	23,59
Базагран		
0,1 ПДК базагран	71,16±3,55	12,08
1 ПДК базагран	67,27±3,36	11,61
2 ПДК базагран	33,76±1,69	10,94
0,1 ПДК базагран + GSH	67,05±3,35	10,75
1 ПДК базагран + GSH	56,03±2,80	14,84
2 ПДК базагран + GSH	34,33±22,60	12,08

Как было установлено ранее, возможные разногласия при определении степени токсичности тех или иных соединений при цианобактериальном тестировании возникают в тех случаях, если исполь-

зуются культуры с высоким титром (раздел 2.1). В дальнейшем в серии опытов выявлено, что на результаты опыта оказывает большое влияние степень фрагментации нитей ЦБ (табл. 47). Для установления оптимальной степени фрагментации нитей ЦБ суспензию культуры гомогенизировали 0,5; 1; 3 минуты на гомогенизаторе марки Homogenizertype 302 при 9000 об./мин. После гомогенизации подсчитывали долю клеток, входящих в цепочки различной длины. Далее суспензии с различной степенью фрагментации нитей помещали в растворы сульфата меди(II) с концентрацией ионов меди  $\text{Cu}^{2+}$ , равной  $1 \text{ мг/дм}^3$ , на сутки. Затем культуру отмывали дистиллированной водой и оставляли на 60 минут при освещенности 4500 лк в 0,075%-ном растворе ТТХ до образования кристаллов формазана.

Таблица 47

Влияние степени фрагментации и ионов меди(II)  
на жизнеспособность ЦБ *N. paludosum*

Время гомогенизации	Степень фрагментации	Жизнеспособность, %	
		Контроль	2,7 мг $\text{Cu}^{2+}$ /дм <sup>3</sup>
Без гомогенизации	Цепочки из 1–10 клеток – 37%; цепочки из более чем 10 клеток – 63%	66,7±6,5	24,0±2,2
30 с	Цепочки из 1–10 клеток – 75%; цепочки из более чем 10 клеток – 25%	64±15	32,5±0,6
1 мин	Цепочки из 1–10 клеток – 94%; цепочки из более чем 10 клеток – 6%	88,3±5,5	42,12±6,6
3 мин	Цепочки из 1–10 клеток – 98%; цепочки из более чем 10 клеток – 2%	74,7±5,2	42,3±6,3

До гомогенизации культуры в суспензии около 63% клеток ЦБ находились в составе нитей длиной более 10 клеток, при этом кристаллы формазана после контакта культуры с раствором ТТХ обнаружены у 67% клеток. При гомогенизации культуры до состояния, когда почти все клетки находятся в цепочках из 10 клеток и менее, – около 75%. Разница может быть обусловлена увеличением площади контакта ионов меди(II) с клетками. При менее фрагментированном состоянии культуры доля клеток с формазаном меньше, чем в культуре с большей степенью фрагментации, из-за невозможности контакта ТТХ с клетками, окруженными цепочками из других клеток. Степень фрагментации оказывает существенное влияние на результат биотестирования. Так, доля клеток негомогенизированной культуры после контакта с ионами меди(II), в которых образовались кристаллы

формаза, составляет всего 23–24%, в то время как увеличение фрагментации приводит к росту этого показателя до 43–45%.

Возраст цианобактериальной культуры также в значительной степени влияет на результат биотестирования (табл. 48). Для установления оптимального для биотестирования возраста культуры ее отбирали из одной и той же емкости через 1, 2, 3, 4 и 6 месяцев выращивания в среде Громова № 6 без азота. Вносили в раствор сульфата меди(II) с концентрацией ионов меди(II), равной 1 мг/дм<sup>3</sup>, и без внесения соли металла и выявляли уровень дегидрогеназной активности [105].

Между результатами, полученными с 1, 2 и 4-месячными культурами при исследовании раствора сульфата меди(II) с концентрацией ионов меди(II), равной 2 мг Cu<sup>2+</sup>/дм<sup>3</sup>, достоверных различий нет. Жизнеспособность одномесячной культуры оказалась достаточно высокой, в отдельных повторностях ее значение достигало 98–99%. Отличаются от остальных результаты, полученные в опытах с шестимесячной культурой, как в ее контрольном, так и опытном (с ионами меди) вариантах: жизнеспособность существенно ниже, чем в остальных вариантах. Кроме того, замечено, что гомогенат шестимесячной культуры, по сравнению с другими, менее чем через сутки приобретает бурую окраску.

Таблица 48

Влияние возраста культуры ЦБ *Nostoc paludosum* и ионов меди(II) на жизнеспособность клеток

Возраст культуры (месяцы)	Жизнеспособность, %	
	Контроль	2 мг Cu <sup>2+</sup> /дм <sup>3</sup>
1	96,7±6,5	44,0±2,2
2	93,4±1,5	42,5±0,6
4	92,0±3,5	42,12±6,6
6	80,7±3,2	29,3±6,3

Таким образом, старение культуры приводит к существенному снижению жизнеспособности клеток ЦБ в присутствии токсиканта.

## 2.6. Использование методики биотестирования в комплексном геоэкологическом мониторинге антропогенно трансформированных территорий

Разработанная методика была применена в рамках комплексного исследования двух территорий: вблизи ТЭЦ-5 (Кировская область, г. Киров) (рис. 35) и вблизи металлоперерабатывающего предприятия, расположенного в г. Владикавказе (Республика Северная Осетия – Алания) (рис. 36) [230].

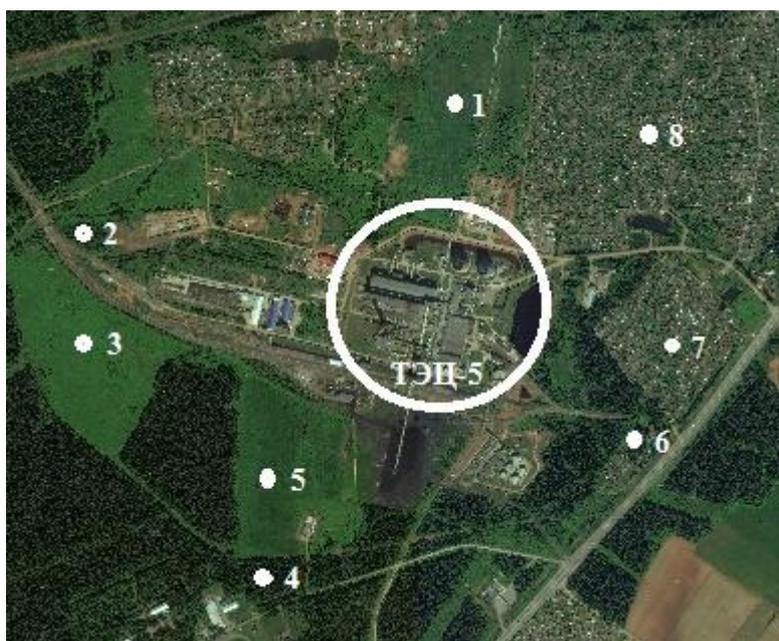


Рис. 35. Схема участков отбора почвенных образцов вокруг ТЭЦ-5 (г. Киров)

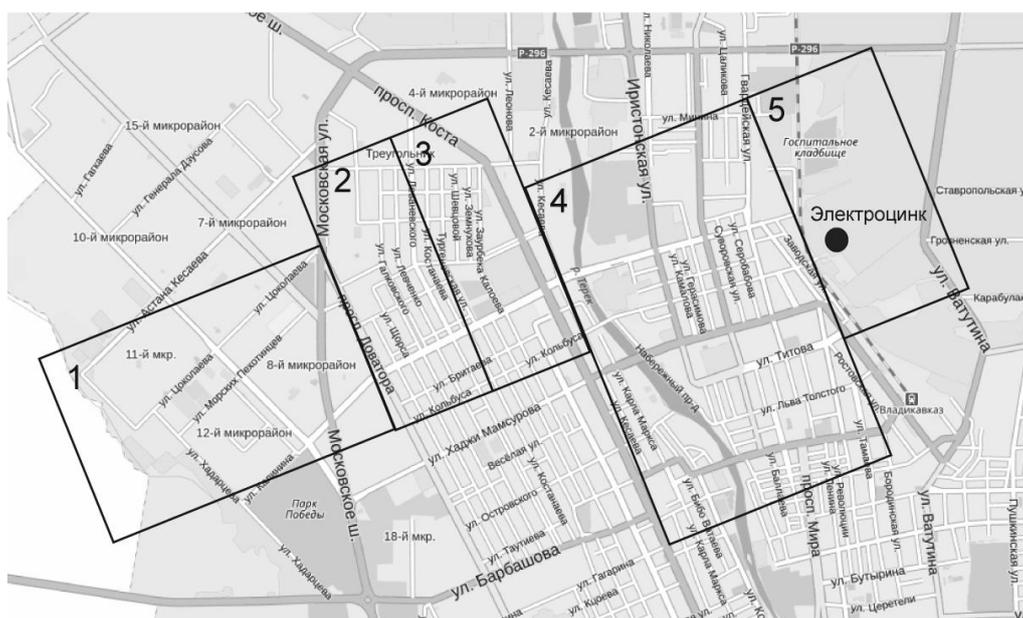


Рис. 36. Участки отбора проб урбаноземов (г. Владикавказ)

ТЭЦ-5 является одной из самых мощных ТЭЦ в г. Кирове. В непосредственной близости к ней располагается множество садово-огородных участков. Поэтому знание о том, насколько велико влияние ТЭЦ на экологическую обстановку вблизи предприятия, является актуальным.

Выбор территории г. Владикавказа как объекта комплексной геоэкологической оценки основан на том, что на территории города имеются источники значительного антропогенного загрязнения, способные существенно изменить экологическую обстановку в указанном населенном пункте.

В отобранных образцах урбаноземов содержание органического вещества определяли фотометрически по методу Тюрина в модификации ЦИНАО: по количеству образовавшегося иона хрома  $\text{Cr}^{3+}$  [61], кислотность – потенциометрически в водной и солевой вытяжках [11], содержание бенз[а]пирена – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Значения рН водных вытяжек из образцов урбаноземов г. Кирова лежат в пределах от 5,65 до 7,28, величины рН солевых вытяжек, соответственно, от 4,75 до 6,45 (табл. 49). Таким образом, почвы на участке 6 относятся к сильнокислым, 7 – к среднекислым, 2 и 5 – к слабокислым, 1 и 4 – к близким к нейтральным, 3 и 8 – к нейтральным. Такое разнообразие почв даже по одному показателю – степени кислотности – отражает их генетическую неоднородность, осложненную антропогенным и техногенным воздействием [230].

Таблица 49

Свойства почв в окрестностях ТЭЦ-5, содержание в них нефтепродуктов и бенз[а]пирена (г. Киров)

Номера участков	$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	$\text{pH}_{\text{KCl}}$	Содержание орг. вещества, %	Содержание бенз[а]пирена, мкг/кг	Содержание нефтепродуктов, мг/кг
1	6,93	5,95	5,8±0,6	0,97±0,27	5,8±2,3
2	6,60	5,31	1,34±0,27	1,00±0,28	5,0±2,0
3	7,13	6,01	1,14±0,23	0,94±0,26	4,9±1,9
4	6,82	5,78	3,8±0,6	0,51±0,14	5,1±2,1
5	6,73	5,43	1,50±0,30	н.о.*	5,3±2,1
6	5,65	4,26	2,5±0,5	н.о.	5,1±2,0
7	5,73	4,78	1,8±0,3	н.о.	4,8±1,9
8	7,28	6,45	3,3±0,5	9,0±3,3	8,3±3,3

Примечание. \*н.о. – ниже предела обнаружения метода.

Содержание органического вещества в целом по территории достаточно низкое, варьирует от  $1,14 \pm 0,21$  до  $5,8 \pm 0,6\%$  (табл. 49). В образце первого участка содержание органики, по сравнению с другими образцами, самое высокое, что может быть обусловлено особенностями участка – на нем присутствуют залежи органического субстрата с высокой долей древесных опилок. По величине значения содержания органического вещества после участка № 1 следуют участки № 3 и 4, которые характеризуются наличием лесных подстилок, перегнивание которых вносит вклад в содержание органики, а участок № 8 – садово-огородный массив, и внесение органики может быть обусловлено хозяйственной деятельностью человека.

Содержание бенз[а]пирена не превышает норму (20 мкг/кг) и встречается только на участках № 1–4 в небольших количествах. Относительно высокое количество указанного поллютанта ( $9,0 \pm 3,3$  мкг/кг) обнаружено в образце, отобранном на восьмом участке, однако это количество тоже не превышает ПДК. Содержание нефтепродуктов (табл. 49) в образцах всех участков, кроме № 8 (8 мг/кг), колеблется около 5–6 мг/кг. Все эти значения лежат в пределах ОДК (2000 мг/кг) и условно фоновых величин для регионов, не ведущих добычу нефти (40 мг/кг) [153].

В связи с использованием в качестве топлива на ТЭЦ угля особый интерес, кроме бенз[а]пирена и нефтепродуктов, представляют тяжелые металлы (ТМ) (табл. 50).

В изученных почвах содержание валовых и подвижных форм ТМ не превышало ОДК и ПДК. Однако при сопоставлении полученных концентраций ТМ с фоновыми значениями в основном отмечено превышение хотя бы по одному металлу. При расчете суммарного показателя загрязнения  $Z_c$  установлено, что практически на всех участках он выше 1, т. е. превышает фон. Тем не менее лишь один участок № 8 обладает умеренно опасной степенью загрязнения по содержанию подвижных форм ТМ ( $Z_{c(\text{подв.})} = 18,3 > 16$ ), остальные участки характеризуются допустимой степенью загрязнения ( $Z_{c(\text{подв.})} < 16$ ).

Исследование токсичности отобранных образцов показало, что более всего дегидрогеназная активность клеток ЦБ подавлялась при экспозиции культуры с вытяжками из образцов № 3–6 и № 8 (см. рис. 37), что согласуется с данными по содержанию токсикантов в образцах [230].

Содержание ТМ в образцах почв,  
отобранных на территории вблизи ТЭЦ-5, мг/кг (г. Киров)

Участок	Pb	Zn	Cu	$\frac{Z_{c(подв.)}}{Z_{c(вал.)}}$
1	$\frac{0,498 \pm 0,011}{8,12 \pm 0,05}$	$\frac{7,60 \pm 0,06}{57,2 \pm 0,7}$	$\frac{0,13 \pm 0,012}{6,23 \pm 1,18}$	$\frac{5,1}{2,1}$
2	$\frac{0,30 \pm 0,09}{4,59 \pm 0,12}$	$\frac{1,52 \pm 0,07}{21,20 \pm 0,04}$	$\frac{0,05 \pm 0,002}{6,24 \pm 0,40}$	$\frac{=}{1,2}$
3	$\frac{0,42 \pm 0,06}{4,48 \pm 0,26}$	$\frac{1,14 \pm 0,06}{30,60 \pm 0,07}$	$\frac{0,12 \pm 0,018}{6,58 \pm 0,12}$	$\frac{2,0}{1,3}$
4	$\frac{0,61 \pm 0,09}{13,80 \pm 0,27}$	$\frac{3,25 \pm 0,04}{55,65 \pm 0,07}$	$\frac{0,060 \pm 0,005}{10,2 \pm 2,8}$	$\frac{1,7}{3,2}$
5	$\frac{0,970 \pm 0,016}{8,04 \pm 0,23}$	$\frac{1,33 \pm 0,012}{50,1 \pm 0,6}$	$\frac{0,0400 \pm 0,0012}{10,25 \pm 1,23}$	$\frac{1,4}{2,6}$
6	$\frac{1,26 \pm 0,13}{12,5 \pm 0,6}$	$\frac{3,73 \pm 0,021}{68,23 \pm 0,30}$	$\frac{0,160 \pm 0,018}{10,8 \pm 2,3}$	$\frac{2,4}{3,5}$
7	$\frac{0,40 \pm 0,06}{7,3 \pm 0,3}$	$\frac{6,60 \pm 0,07}{39,2 \pm 4,3}$	$\frac{0,080 \pm 0,005}{6,4 \pm 0,4}$	$\frac{3,7}{1,5}$
8	$\frac{1,24 \pm 0,17}{16,40 \pm 0,27}$	$\frac{18,54 \pm 0,04}{117,9 \pm 0,4}$	$\frac{0,54 \pm 0,11}{14,5 \pm 1,6}$	$\frac{18,3}{6,7}$
Фон-луг	$\frac{0,720 \pm 0,021}{7,5 \pm 0,5}$	$\frac{1,94 \pm 0,021}{32,50 \pm 1,30}$	$\frac{0,0600 \pm 0,0022}{5,11 \pm 1,21}$	–
Фон-лес	$\frac{1,223 \pm 0,011}{7,14 \pm 0,30}$	$\frac{1,92 \pm 0,011}{32,20 \pm 0,80}$	$\frac{0,110 \pm 0,012}{6,45 \pm 0,43}$	–
ПДК (ОДК)	$\frac{6}{65^* - 130^{**}}$	$\frac{23}{110^* - 220^{**}}$	$\frac{3}{66^* - 132^{**}}$	–

*Примечание.* \* – значения ОДК для участков № 2, 5–7, \*\* – для участков № 1, 3, 4, 8. Здесь и далее в табл. 51: над чертой приведены данные по содержанию подвижных форм, под чертой – валовых форм ТМ в почве. Прочерк обозначает, что данные отсутствуют или не могут быть определены.  $Z_{c(подв.)}$ ,  $Z_{c(вал.)}$  – суммарный коэффициент загрязнения почвы подвижными, валовыми формами ТМ.

Исследуемые образцы урбаноземов г. Владикавказа характеризуются значениями рН, близкими к нейтральному уровню (табл. 51). Содержание органического вещества колеблется в пределах от 2,2 до 11,5%. Основной особенностью проб является их высокое загрязнение соединениями ТМ. В большинстве образцов установлено сверхнормативное содержание свинца: кратность превышения ОДК варьировала от 3,2 в пробе № 3 до 28 в пробе № 5. Содержание подвижных форм свинца во всех пробах превышало ПДК и фон (6 и 5 мг/кг).

Максимальные значения показателя определены в пробах № 4 и 5: ПДК превышено в 102 и 310 раз соответственно.

Таблица 51

Характеристика проб урбаноземов г. Владикавказа

№ пробы	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>	Содержание органического вещества, %	Содержание ТМ, мг/кг			$\frac{Z_{c(подв.)}}{Z_{c(вал.)}}$
				Pb	Cu	Zn	
1	7,02	5,93	2,7±0,5	<u>149±31</u> 480±100	<u>2,0±0,5</u> 96±22	<u>490±160</u> 1400±500	<u>78</u> 18
2	6,55	5,53	7,3±0,7	<u>7,3±1,5</u> 43±9	<u>0,53±0,12</u> 26±6	<u>13±4</u> 102±34	<u>1,7</u> –
3	7,31	6,46	11,5±1,1	<u>162±34</u> 410±90	<u>2,1±0,5</u> 63±14	<u>420±140</u> 1500±500	<u>76</u> 19
4	7,60	6,93	11,0±1,1	<u>610±130</u> 1240±260	<u>5,3±1,2</u> 101±23	<u>470±150</u> 2000±700	<u>173</u> 29
5	6,60	6,06	5,0±0,7	<u>1860±390</u> 3700±800	<u>152±35</u> 620±140	<u>5900±1900</u> 13000±4000	<u>1173</u> 163
Фон	–	–	–	<u>5,0±0,9</u> 116±20	<u>0,66±0,11</u> 25±6	<u>10,3±2,9</u> 120±40	–
ПДК[34]/ ОДК[35]	–	–	–	<u>6/</u> 130	<u>3/</u> 132	<u>23/</u> 220	–

*Примечание.* Жирным шрифтом выделены значения, превышающие норматив. Прочерк – определение не проводили.

Высокие концентрации соединений меди установлены в почве участка № 5: содержание валовых и подвижных форм элемента было выше норматива в 4,7 и 51 раз соответственно. В большинстве отобранных проб установлены высокие концентрации соединений цинка. Норматив содержания цинка превышен в 6–60 раз по валовым формам и в 18–256 раз по подвижным формам во всех пробах, кроме пробы № 2.

Отличительной особенностью большинства проанализированных почвенных образцов является высокое содержание подвижных форм ТМ (до 310 ПДК), а также их высокая доля в валовом содержании элемента (до 50%). Относительно невысоким было содержание ТМ в пробе № 2.

Суммарный показатель загрязнения проб почв валовыми формами ТМ сильно различается: от незагрязненной почвы участка № 2 ( $Z_{c(вал.)} < 1$ ) до чрезвычайно опасно загрязненной пробы № 5 ( $Z_{c(вал.)} = 163$ ) (табл. 52). Суммарный показатель загрязнения почв по подвижным формам ТМ гораздо выше, чем по валовым формам. Согласно рассчитанным значениям  $Z_c$  для подвижных форм ТМ пробы с

участков № 5 и 4 имеют чрезвычайно опасную степень загрязнения ( $Z_{с(подв.)} = 1173$  и  $173$ ), что вполне закономерно, так как участки их пробоотбора расположены ближе всех остальных к предприятию-загрязнителю.

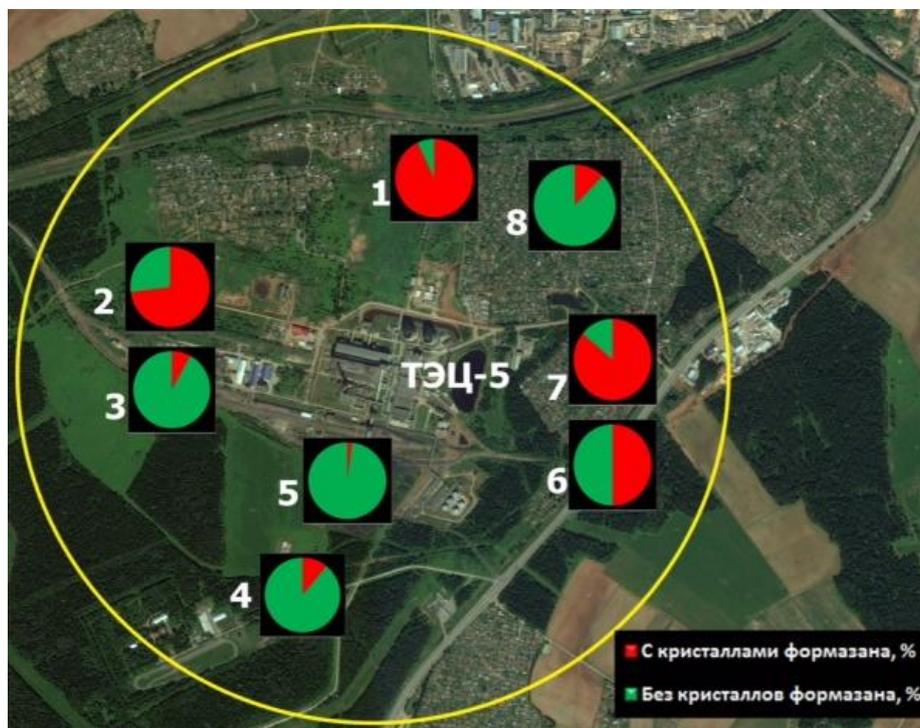


Рис. 37. Влияние веществ, содержащихся в водных вытяжках из образцов почв г. Кирова, на активность дегидрогеназы в клетках почвенных цианобактерий (учет доли клеток, в которых под действием дегидрогеназ образовались кристаллы формазана)

Исследование токсичности по реакции почвенных ЦБ рода *Nostoc* показало, что вещества, содержащиеся в водных вытяжках из проб, отобранных на близлежащих к ОАО «Электроцинк» участках (№ 4, 5), значительно угнетают дегидрогеназную активность микроорганизмов (на 81 и 100% соответственно), данные пробы признаны токсичными (рис. 38).

Таблица 52

Степень загрязнения проб урбаноземов г. Владикавказа по показателю суммарного загрязнения

Степень загрязнения	СПЗ	№ проб
Допустимая	< 16	2/2
Умеренно опасная	16–32	–/1, 3, 4
Опасная	32–128	1, 3/–
Чрезвычайно опасная	> 128	4, 5/5

Примечание. Перед чертой / приведены данные по подвижным формам, после черты – по валовым формам ТМ.

Реакция ЦБ коррелирует с валовым содержанием ТМ ( $r = 0,93$ ). Однако, как и при использовании аттестованных методик биотестирования, для некоторых участков высокие суммарные показатели загрязнения не вызывают критического ответного угнетения дегидрогеназной активности ЦБ. Например, образцы с участков № 1 и 3 угнетают ЦБ на  $23,5 \pm 1,4$  и  $29,3 \pm 1,2\%$ , по сравнению с контролем, тогда как соответствующие СПЗ равны 26,5 и 21,1, что характеризуется как умеренно опасная степень загрязнения.

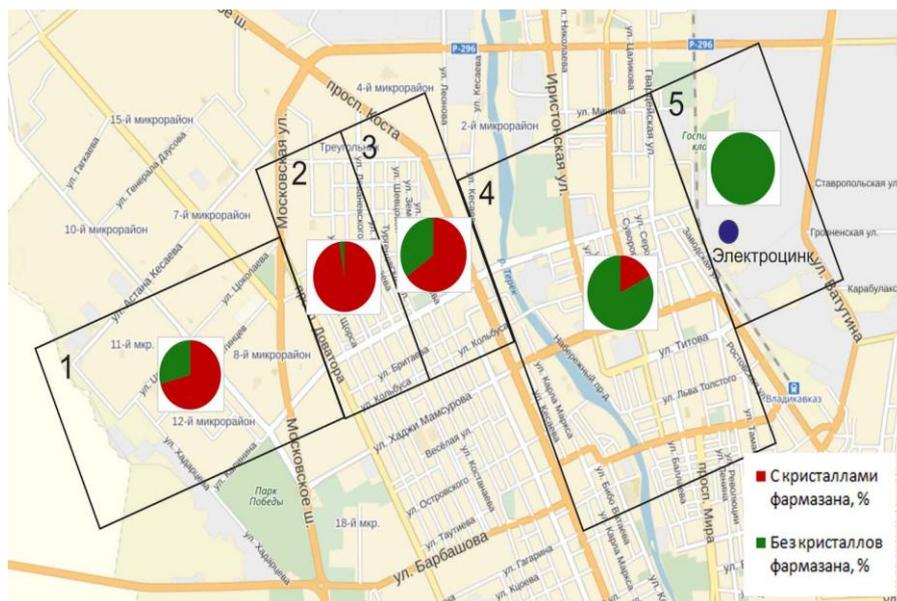


Рис. 38. Влияние веществ, содержащихся в водных вытяжках из образцов урбаноземов г. Владикавказа, на активность дегидрогеназы в клетках почвенных цианобактерий (учет доли клеток, в которых под действием дегидрогеназ образовались кристаллы фармазана)

Из разработанных методик биотестирования в целом следует отметить преимущества тетразольно-топографического метода, с помощью которого удается обнаружить разницу в токсичности образцов, уровень загрязнений которых даже не превышает нормативного.

Таким образом, в ходе проведенного исследования выявлено, что у культуры ЦБ *N. paludosum*, по сравнению с другими культурами, дегидрогеназная активность наиболее чувствительна к действию солей ТМ и фосфорорганических соединений. Оптимальным титром для регистрации уровня токсичности исследуемых растворов является  $2 \cdot 10^7$  кл./см<sup>3</sup>.

Экспозиция культуры с исследуемым раствором и раствором ТТХ при температуре 27 °С и освещенности 4500 лк позволяет повысить экспрессность методики, проведение биотестирования возможно в течение пяти часов.

Методика апробирована как на модельных растворах токсикантов (сульфат меди(II) и фосфорорганические соединения), так и в ходе комплексного геоэкологического исследования антропогенно нарушенных территорий.

## 2.7. Использование интенсивности биохемилюминесценции цианобактерий при биотестировании

Одним из перспективных показателей для определения жизнеспособности клеток является интенсивность биохемилюминесценции (БХЛ) веществ клеток некоторых организмов [56, 134, 179]. БХЛ – это вид хемилюминесценции. БХЛ основывается на химических процессах, при которых освобождающаяся энергия выделяется в форме света. Она возникает при многих химических реакциях, например при рекомбинации свободных радикалов или в реакциях окисления. На основе знаний о БХЛ открывается путь исследования влияния токсикантов на культуру гетероцистных ЦБ. Молекулами эмиттерами (ответственными за люминесценцию) могут быть очень многие соединения, в том числе хлорофилл *a*, один из фотосинтетических пигментов и у ЦБ.

Определение интенсивности БХЛ мы проводили с помощью регистрации кинетической кривой спонтанной люминолнезависимой хемилюминесценции. Измерения проводили на биохемилюминометре БХЛ-07 (ЦНИЛ НГМА; «ИМБИО» Н. Новгород, Россия), регистрировали максимальную интенсивность быстрой вспышки ( $I_{\max}$ , мВ), светосумму ( $S$  – площадь под кривой, мВ·сек) свечения пробы, величина которой обратно пропорциональна общей антиоксидантной активности. Для этого в измерительную кювету вносили 1 мл взвеси ЦБ, помещали в измерительную камеру и включали режим термостатирования (+37 °С). Измерение проводили в течение 30 с [56].

Опыты были проведены с альгологически чистой культурой ЦБ *N. linckia*, выращенной в течение двух месяцев в люминостате при постоянной температуре (+25 °С) и 12-часовом освещении (3000 лк) на жидкой питательной среде Громова № 6 без азота. Токсикантом являлась соль меди –  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Перед использованием культуру разбивали на гомогенизаторе при 9000 об./мин в течение 5 минут. Оптимальный титр *N. linckia* для биотестирования определяли в присутствии ионов  $\text{Cu}$  с концентрацией 2 мг/дм<sup>3</sup>. Продолжительность контакта составляла 12 часов. Для исследования брали суспензии с

титрами  $1,22 \cdot 10^9$ ;  $0,61 \cdot 10^9$ ;  $0,31 \cdot 10^9$ ;  $0,15 \cdot 10^9$ ;  $0,08 \cdot 10^9$  кл./мл. Контролем служили варианты с аналогичным титром, но без добавления соли меди. Вели исследование чувствительности культуры *N. linckia* при концентрациях ионов Cu(II) близких к значению ПДК: в области концентраций от 0,1 до 1,0 мг/дм<sup>3</sup>. На следующем этапе эксперимента расширили область концентраций токсиканта (0,1; 1; 10 мг/дм<sup>3</sup>) и экспериментировали с различным временем экспозиции (12 и 24 ч). По окончании опыта определяли содержание хлорофилла *a* и интенсивность БХЛ [56].

Таблица 53

Влияние титра цианобактерии *Nostoc linckia*  
на интенсивность биохемилюминесценции

Титр, $\cdot 10^9$ кл./мл	Интенсивность биохемилюминесценции, J (мВ)	
	Без токсиканта	С токсикантом
1,22	2310±48	2128±151
0,61	2286±51	1751±176
0,31	2367±56	776±91
<b>0,15</b>	1869±67	486±8
0,08	1503±80	726±38

*Примечание.* Жирным шрифтом выделен выбранный оптимальный титр для исследования.

Результаты эксперимента показали, что при титре  $0,08 \cdot 10^9$  кл./мл происходит усиление БХЛ в варианте с ионами меди, что может маскировать проявление токсического эффекта при биотестировании. При высоких титрах отсутствует закономерность в вариантах без добавления ТМ (табл. 53), коэффициент корреляции между количеством клеток и биохемилюминесценцией составляет всего  $R = 0,63$ . Скорее всего, такое явление связано с затруднением фиксации излучения прибором от всех возможных источников в суспензии, так как высокая плотность раствора препятствует фиксации излучения от глубинных клеток. В присутствии токсиканта количество живых люминесцирующих клеток уменьшается. Поэтому эффект «заслонения» ниже и зависимость от титра выражена сильнее. Такой эффект затрудняет использование культур с высоким титром в целях биотестирования [56, 58].

Интенсивность БХЛ менее показательный критерий в контрольных вариантах, чем содержание хлорофилла у *N. linckia*, которое в контроле точно коррелирует с численностью клеток в растворе ( $R = 0,99$ ). Уменьшение титра клеток приводит к уменьшению содержания хлорофилла (рис. 39). Коэффициент корреляции Пирсона меж-

ду содержанием хлорофилла *a* и БХЛ в контрольных вариантах составляет 0,73. Таким образом, было выявлено, что самым подходящим для работы титром является  $0,15 \cdot 10^9$  кл/мл [56].

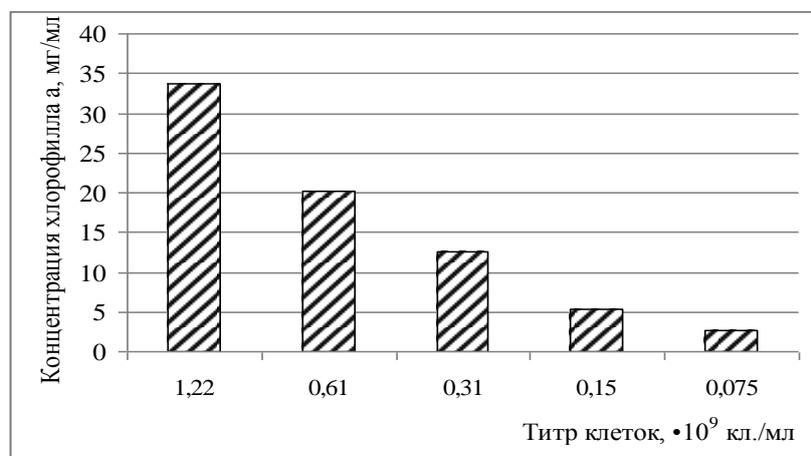


Рис. 39. Содержание хлорофилла *a* в культуре *N. linckia* при различном титре клеток

В следующей серии опытов в культуру ЦБ с титром, определенным в предыдущем опыте, добавляли раствор  $\text{CuSO}_4$  так, чтобы концентрация ТМ составляла 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0 мг/дм<sup>3</sup>. Затем расширили область концентраций токсиканта и экспериментировали с различным временем экспозиции. Время экспозиции культуры *N. linckia* с ионами меди(II) составило 12 и 24 ч, а концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  – 0,1; 1; 10 мг/дм<sup>3</sup> [56].

Установлено, что при концентрации ионов меди от 0,1 до 1,0 мг/дм<sup>3</sup> в культуре *N. linckia* не обнаружено четкой зависимости интенсивности БХЛ от концентрации ТМ (табл. 54).

Таблица 54

Влияние концентрации ионов меди (II) на интенсивность биохемилюминесценции культуры *Nostoc linckia*

Концентрации ионов меди (II), мг/дм <sup>3</sup>	Интенсивность биохемилюминесценции, J (мВ)	
	Без токсиканта, J (мВ)	С токсикантом, J (мВ)
0,1	1869±67	1720±49
0,2		995±5
0,4		2009±14
0,8		1507±13
1,0		2021±36

Так, концентрация 0,2 мг/дм<sup>3</sup> оказалась токсичней, чем более высокие концентрации ионов  $\text{Cu(II)}$ , а при концентрации 0,4 и

1,0 мг/дм<sup>3</sup> происходит усиление БХЛ. Коэффициент корреляции в данном опыте между концентрацией ТМ и интенсивностью БХЛ составляет 0,42. Вероятно, невысокое содержание меди в среде не является показателем, который может рассматриваться в качестве объективной оценки уровня загрязнения [56].

Использование более широкого диапазона концентраций (0,1; 1,0; 10 мг/дм<sup>3</sup>), в том числе с разным временем экспозиции ТМ – 12 и 24 ч, позволило установить, что значение показателя БХЛ через 12 ч плавно уменьшается с увеличением концентрации токсиканта (рис. 40). Полученные результаты подтверждаются и коэффициентом корреляции, равным 0,99 [56].

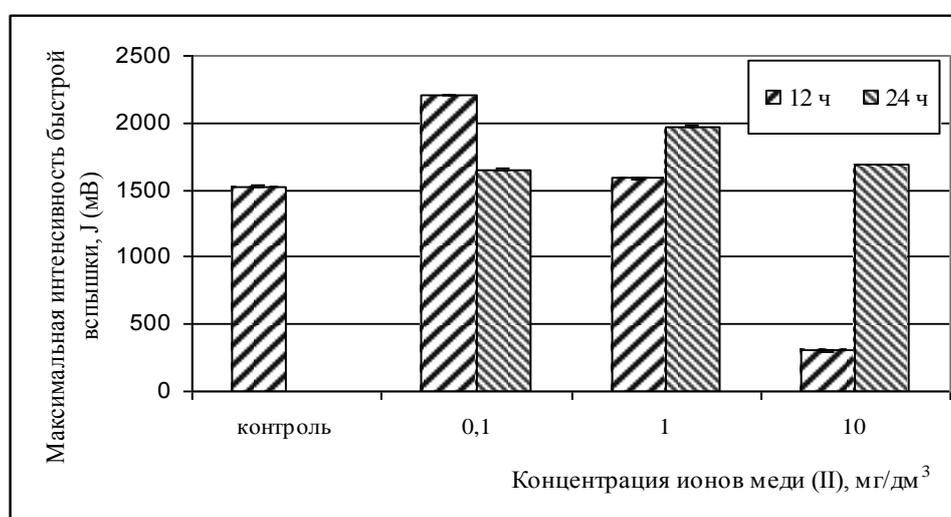


Рис. 40. Влияние продолжительности контакта с токсикантом и его концентрации на биохемилюминесценцию *N. linckia*

Суточное воздействие ионов меди, вероятно, влияет на фенотипическую адаптацию ЦБ к неблагоприятным для них условиям обитания. Так, ТМ влияют на популяцию ЦБ, а именно на состояние метаболического обмена, который дает возможность клеткам перестраивать функционирование клеток [47]. В нашем случае адаптация выражается в большем свечении фотосинтетиков по истечении 24 ч по сравнению с 12 ч воздействием. Так, средний уровень свечения через 1 сутки выше, чем через 12 ч (рис. 40). В целом общий уровень свечения ЦБ выше, чем в контроле [56].

Таким образом, установлено: 1. Отклик в виде интенсивности БХЛ у ЦБ *N. linckia* на действие ионов меди (II) неоднозначен. Важным условием является время воздействия токсиканта. Однако определение БХЛ – это уникальная возможность изучения функциониро-

вания систем фотосинтезирующих МО, а в сочетании с другими показателями – основа для выявления маркеров функционирования на биохимическом и популяционном уровне. 2. Показано, что при определении БХЛ необходимо учитывать титр МО, так как при высоких титрах проявляется «эффект заслонения», а при низких титрах и низких концентрациях токсиканта – усиление вспышки, что может скрадывать результат биотестирования. 3. При отработке системы биотестирования необходимо учитывать особенности конкретных цианобактериальных культур. 4. Реакция на токсикант обусловлена не только откликом каждой отдельной клетки, но и поведением популяции в стрессовых ситуациях [56].

### **2.8. Перекисное окисление липидов, активность каталазы и содержание хлорофилла как маркерные признаки при использовании цианобактерий в процессе биотестирования**

Маркерными признаками при использовании ЦБ в качестве тест-организмов, помимо дегидрогеназной активности и БХЛ, могут быть и другие показатели их физиолого-биохимической активности. При определении физиологического состояния клеток и постмортальной активности ферментных систем реально использовать показатели интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность каталазы.

В первой серии опытов при определении активности каталазы в качестве токсикантов выбраны соединения, являющиеся загрязнителями в городских и сельскохозяйственных экосистемах: соли ТМ (ацетат свинца и сульфат меди), хлорид натрия, бензин 92-й марки и гербицид трефлан в концентрациях, реально присутствующих в окружающей среде [164]. Бензин 92-й марки компании «Лукойл» отобран на одной из заправок г. Кирова. Трефлан – селективный довсходовый гербицид длительного действия для уничтожения однолетних сорняков в посевах многолетних сельскохозяйственных культур. Действующее вещество – трифлуралин (2,6-динитро 4-трифторметил-N, N-дипропилин). Его выбор обусловлен широким использованием в сельском хозяйстве для борьбы с однодольными сорными растениями и длительной устойчивостью продуктов разложения в почве. Установлено, что при фотохимическом разложении трефлана образуются алкил- и диалкилбензимидазолы и азоксианилины и ряд других веществ. Производные бензимидазола достаточно стабильны и

могут сохраняться в объектах окружающей среды достаточно длительное время [105].

Концентрации поллютантов для ТМ соответствовали 5 ПДК, для бензина и хлорида натрия – 5% от объема культуральной среды, для трефлана была выбрана производственная доза 0,2% [105].

В качестве тест-организма использована ЦБ *Nostoc paludosum*.

Изучение активности каталазы, определенной газометрическим методом в нашей модификации, показало, что максимальная величина этого показателя выявлена в контрольном варианте, а минимальные значения – в вариантах с внесением меди и бензина (табл. 55). Активность каталазы в культуре с внесением поллютантов имела тесную корреляцию с количеством живых клеток ( $r = 0,84$ ), которую определяли тетразольно-топографическим методом (рис. 41) [105].

Таблица 55

Изменение каталазной активности культуры *Nostoc paludosum* под влиянием токсикантов

Вариант	Активность каталазы, мл O <sub>2</sub> /мин
1. Контроль	11,5±1,32
2. Pb	4,0±0,25
3. Cu	0,3±0,02
4. NaCl	3,3±0,43
5. Трефлан	3,2±0,37
6. Бензин	0,6±0,05

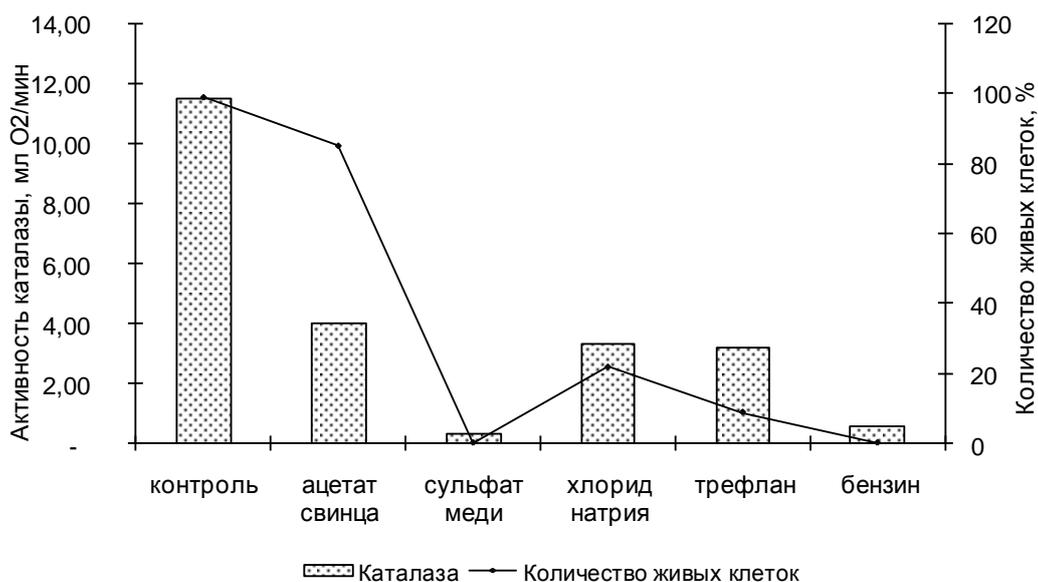


Рис. 41. Влияние токсикантов на активность каталазы и жизнеспособность клеток *Nostoc paludosum*

Таким образом, ряд токсичности соединений, выявленный по каталазе, имеет почти такой же вид, как и по жизнеспособности клеток:  $\text{Cu} > \text{бензин} > \text{трефлан} = \text{NaCl} > \text{Pb}$  [105, 164].

Результаты определения каталазной активности показывают, что даже после полной гибели клеток (варианты с медью и бензином) сохраняются и проявляют активность ферментные системы, вероятно, во внеклеточной среде. Установлено также, что внесение поллютантов в культуру *N. paludosum* приводит к возрастанию интенсивности процессов перекисного окисления липидов (рис. 42). Интенсивность ПОЛ в культуре *N. paludosum* анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом (МДА), образующимся в процессе ПОЛ. За основу была взята методика определения ПОЛ в растительных тканях в нашей модификации. Для анализа отбирали 1 мл гомогенизированной культуры ЦБ, добавляли ТРИС-НСI буфер (рН = 7,6) и 0,5%-ный раствор тиобарбитуровой кислоты в 20%-ной трихлоруксусной кислоте. Полученный раствор кипятили на водяной бане в течение 30 минут. Оптическую плотность фильтрата определяли на спектрофотометре Spescol-1100 при длине волны 532 нм [56, 105, 164].

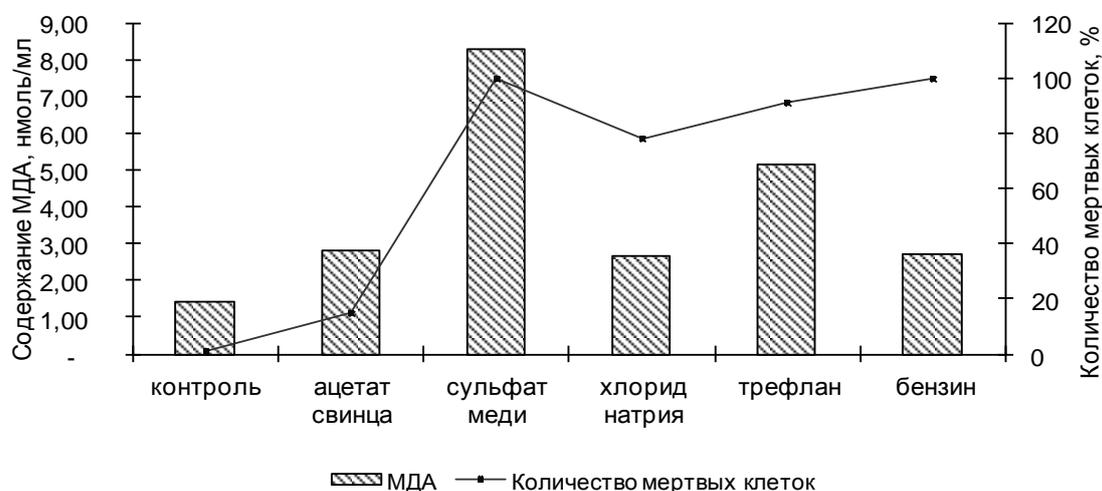


Рис. 42. Влияние токсикантов на интенсивность процессов ПОЛ и жизнеспособность клеток *Nostoc paludosum*

В большей степени отмечали увеличение уровня МДА в вариантах с медью и трефланом – в 5,9 и 3,6 раза соответственно. В вариантах с другими поллютантами накопление МДА было выше, чем в контроле, в 1,9 раза. Значительное накопление в культуре *N. paludosum* МДА свидетельствует о том, что поллютанты иници-

руют процессы ПОЛ, вызывают повреждение клеточных мембран и нарушение функционирования клеток. Данные по интенсивности процессов ПОЛ коррелируют ( $r = 0,61$ ) с результатами по оценке жизнеспособности клеток методом ТТХ (рис. 42). Так, в вариантах с медью и трефланом установлено значительное накопление МДА и максимальное количество мертвых клеток ЦБ. В варианте с бензином также все клетки ЦБ были нежизнеспособны, но уровень ПОЛ был ниже, чем в вариантах с медью и трефланом. По-видимому, это связано с особенностями биотрансформации бензина, которая в основном идет по пути окислительной деструкции с поглощением активного кислорода [105].

Опыты, проведенные с другой культурой ЦБ *N. linckia*, показали, что под влиянием такого токсиканта, как ионы  $Ni^{2+}$ , происходит возрастание интенсивности окислительных процессов и накопления продуктов ПОЛ – МДА в культуре ЦБ. В то же время количество хлорофилла *a*, по сравнению с контролем, снижается в обоих вариантах (рис. 43). Вероятно, разрушение пигмента под действием  $Ni^{2+}$  становится одной из причин гибели популяции ЦБ.

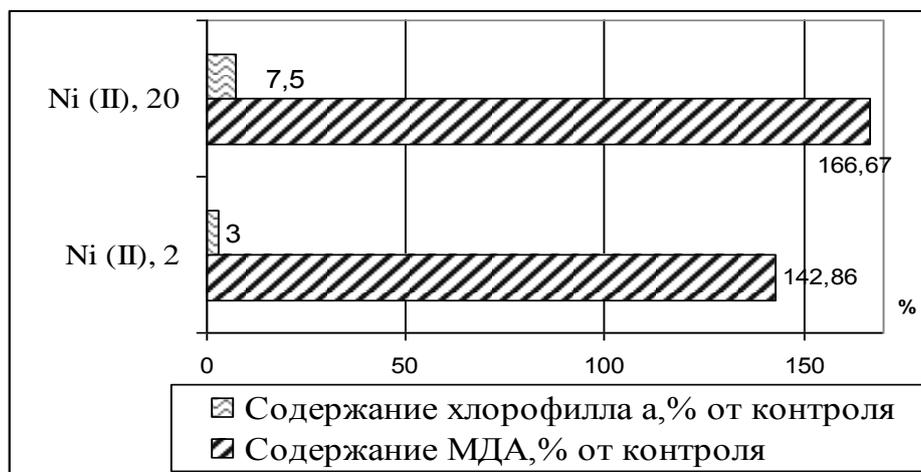


Рис. 43. Содержание хлорофилла *a* и малонового диальдегида в культуре *Nostoc linckia* при внесении ионов  $Ni^{2+}$ , % от контроля (контроль – 100%)

Определение таких показателей функционирования клеток *N. linckia*, как ПОЛ, содержание хлорофилла *a*, поглощение никеля и НП выявило существование изменения в протекании физиологических процессов у исследуемой культуры. Так, количество хлорофилла *a* по сравнению с контролем снижается во всех вариантах (рис. 44). Наибольшее снижение наблюдается в случаях внесения  $Ni$  в любых концентрациях и  $Ni$  в сочетании с НП [56, 58, 164].

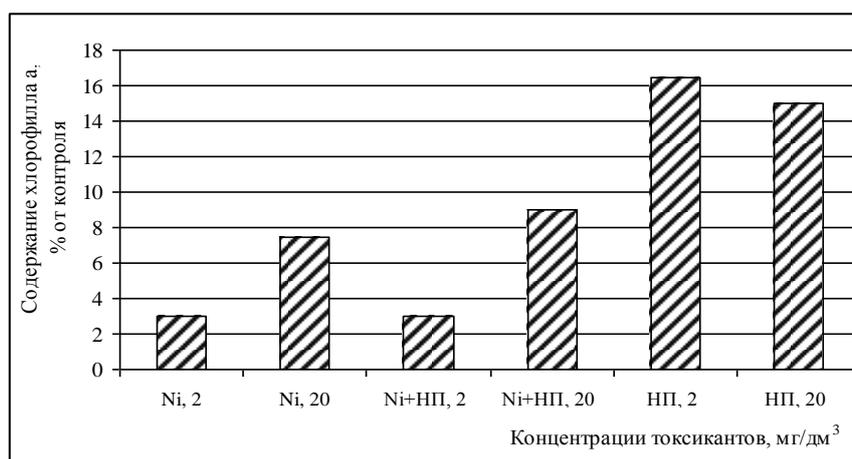


Рис. 44. Содержание хлорофилла *a* в культуре *Nostoc linckia* при внесении токсикантов, % от контроля

Сравнение результатов по снижению титра клеток ЦБ и содержания в них хлорофилла *a* в присутствии никеля показывает их практическую тождественность (табл. 56). Вероятно, разрушение фотосинтезирующего пигмента под действием никеля становится одной из причин гибели популяции ЦБ [56].

Изучение действия стрессовых факторов на антиоксидантные системы фотосинтезирующих МО, в частности эукариотных водорослей, показывает, что могут наблюдаться следующие изменения в структуре и функционировании клетки: вздутие тилакоидов, аккумуляция липидных глобул, увеличение содержания веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и  $H_2O_2$ , возрастание содержания глутатиона [56, 372].

Таблица 56

Снижение численности клеток *Nostoc linckia* и содержания в них хлорофилла под действием никеля, % к контролю

Вариант, доза токсиканта (мг/дм <sup>3</sup> )	Титр клеток	Содержание хлорофилла <i>a</i>
1. Ni, 2	3,5	3,0
2. Ni, 20	7,5	7,5
3. (Ni+НП), 2	4,0	3,0
4. (Ni+НП), 20	8,3	9,0

В наших опытах с прокариотными фотосинтетиками установлено, что под влиянием никеля и нефтепродуктов (НП) происходит возрастание интенсивности окислительных процессов и накопления продуктов ПОЛ – малонового диальдегида в культуре ЦБ (рис. 46) [56, 58, 164].



Рис. 45. Накопление МДА в культуре ЦБ *Nostoc linckia* под влиянием никеля и нефтепродуктов, % от контроля

В большей степени возрастание ПОЛ вызывают НП, скорее всего, это связано с особенностями химического состава НП и направленности процессов их биодеструкции. Так, входящие в состав НП углеводороды, этиленгликоль и пропиленгликоль подвергаются биотрансформации, которая прежде всего идет по пути окисления. Нередко в ходе окислительной деструкции токсикантов образуются активные промежуточные продукты, которые инициируют образование активных форм кислорода (супероксидный радикал и др.), вызывающих окислительное повреждение биологических молекул, в том числе и липидов [257]. Ранее отмечалось, что такие поллютанты, как хлорид натрия, ацетат свинца, сульфат меди, вызывают активацию процессов ПОЛ в культуре *N. linckia*. В большей степени возрастание интенсивности ПОЛ вызывал сульфат меди [56, 164].

Таким образом, изучение способности ЦБ в качестве тест-организмов диагностировать уровень загрязнения ОС поллютантами различной химической природы базируется на определенных физиолого-биохимических особенностях данных организмов. Проведенные исследования указывают, что в зависимости от конкретных условий чистые культуры различных видов ЦБ можно использовать в биомониторинговых целях по таким параметрам их метаболизма, как активность каталазы; дегидрогеназная активность, связанная с накоплением в живых клетках формазана, образующегося из ТТХ; перекисное окисление липидов, определяемое по накоплению малонового диальдегида; биохемилюминесценция; интенсивность фотосинтеза; концентрация хлорофилла и феофитина.

## ГЛАВА 3. БИОСОРБЦИЯ И БИОДЕГРАДАЦИЯ ПОЛЛЮТАНТОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Особое место среди всех факторов антропогенной нагрузки, негативно влияющих на состояние здоровья человека, занимают химические загрязнители. В настоящее время во внешней среде зарегистрировано около 4 млн токсичных веществ, и ежегодно их количество возрастает [137]. Циркуляция опасных поллютантов в ОС может прекращаться в результате биосорбционной и биodeградационной активности различных МО, как аборигенных форм, так и специально внесенных в почву. Механизмы биосорбции и биodeградации поллютантов связаны с рядом физиолого-биохимических особенностей микробов и спецификой их метаболизма. В зависимости от химической природы поллютантов изменение формы и количества их нахождения в ОС может происходить различными путями. Среди загрязнителей окружающей среды одну из лидирующих позиций занимают тяжелые металлы (ТМ) и вещества органической природы (НП, ПАВы, пестициды и некоторые другие).

### 3.1. Механизмы биосорбции тяжелых металлов

В соответствии с локализацией процесса биосорбции металлов механизмы биосорбции могут быть классифицированы как *внутриклеточное взаимодействие, взаимодействие на поверхности клетки, внеклеточное взаимодействие*.

*Внутриклеточное взаимодействие.* Активный транспорт металла через мембраны клетки приводит к внутриклеточному накоплению, которое зависит от метаболизма бактерии [380]. Эссенциальные металлы активно поглощаются специализированными системами поглощения, так как они необходимы, но другие, второстепенные, металлы также могут быть поглощены из-за того, что их ошибочно принимают за микроэлемент [312]. При высоких концентрациях токсичных металлов МО активно поглощают ионы металлов, чтобы детоксифицировать среду своего обитания. Фактически виды бактерий способны к преобразованию ионов металлов и неметаллов до органометаллических и органонеметаллических лигандов внутри клетки типа металлотионеинов [335]. У МО также имеются метаболические процессы типа биоосаждения для усиления поглощения металлов [287, 379]. Осаждение ТМ в клетках обусловлено работой фермент-

ных систем, преобразующих одну форму металла в другую, при этом образуется осадок. Нерастворимое металлосодержащее вещество осаждается в виде ионов металлов, объединенных с различными анионами, образующимися при метаболизме клетки [307]. Например, *Citrobacter* sp. может накапливать высокие уровни урана, никеля и циркония путем формирования осадков фосфатов металлов [265]. Иногда осаждение ТМ не является результатом непосредственного действия на них химических веществ микроорганизмов. Так, в присутствии желатина сульфатредуцирующие бактерии активно продуцируют сероводород, последний, в свою очередь, осаждает практически все ионы ТМ. Осадок может адсорбироваться на поверхности клеток или выпадать независимо от организмов. Ионы ТМ (Zn, Pb, Mn) в концентрации до 20 мг/л потреблялись полифосфатными телами клеток ЦБ *Plectonema boryanum*, однако поглощение ТМ живыми клетками было значительно выше, чем убитых нагреванием [376]. Активным природным сорбентом ТМ из почвенных растворов является цианобактерия-космополит *Nostoc commune* [175].

Сорбционная активность характерна для различных групп МО. К числу наиболее активных биосорбентов принадлежат микромицеты [241]. Так, выявлен широкий спектр микроскопических грибов, поглощающих из ОС ионы ТМ. В одном из исследований доказано, что сорбирующей активностью обладают микромицеты, выделенные из очагов плесневого поражения в жилых помещениях и музейных учреждениях на объектах, содержащих соединения ТМ [54]. Из 68 культур, доминировавших в очагах развития плесневых грибов в квартирах, стены которых ранее были обработаны медным купоросом, большинство грибов были представителями форм с темнопигментированным мицелием (преимущественно *Alternaria*, *Ulocladium*, *Cladosporium*), а также грибы р.р. *Aspergillus* и *Penicillium*. В музее 13 культур было выделено из колоний, гифы которых могли контактировать с пигментами, содержащими ТМ (поверхность картин, тыльная сторона холстов, лаковый слой иконописи). Большинство из них принадлежало р. *Aspergillus*. Проверка сорбционной способности исследованных грибов показала, что мицелию большинства культур соответствовал следующий ряд предпочтительности сорбции:  $Fe^{3+} > Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} Ni^{2+} > Co^{2+}$ . К сорбции ионов Ni из водных растворов способна грибная биомасса *Mucor hiemalis*, убитая автоклавированием [350]. Бактерии *Azotobacter* sp. и *Micrococcus luteus* могут содержать Pb до  $3,1-4,9 \cdot 10^2$  мг/г сухой биомассы [16]. ТМ мо-

гут накапливаться в вакуолях, где связываются с полифосфатами, превращаясь в нетоксические комплексы [67, 138, 192, 195]. Аккумуляция ТМ микробными клетками во многом определяется их анатомо-морфологическими, биохимическими и физиологическими особенностями. Так, при сравнении биосорбционной активности по отношению к  $\text{Cu}^{2+}$  двух видов грасиллярий: *Gracillaria lemaneiformis* и *G. lichenoides* – было обнаружено, что *G. lemaneiformis* оказалась более способной к аккумуляции меди и содержала больше нерастворимых полисахаридов в клеточных стенках, чем *G. lichenoides*, из-за снижения скорости роста, содержания пигментов и активности фотосинтеза [297]. Как биосорбент, эффективно очищающий сточные воды с высоким содержанием ТМ, используется, в частности, такой микроорганизм, как *Ecklonia maxima* [284].

*Взаимодействие на поверхности клетки.* В этом процессе большую роль играет физико-химическое взаимодействие между ионами металлов и поверхностью МО. Биосорбция, главным образом, пассивное, независимое от метаболизма взаимодействие с металлами. Если элементы питания не поддерживают жизнедеятельность МО, то для удаления ТМ эффективно используются как живые, так и мертвые клетки [114].

Сорбция на поверхности клеток обусловлена наличием в клеточных стенках соединений, имеющих функциональные группы (фосфатная, карбоксильная, сульфгидрильная, гидроксильная и др.), способные связывать положительно заряженные ионы ТМ. Такой вид сорбции происходит быстро, обратимо, часто не зависит от температуры и энергетического метаболизма.

Механизмы, которыми металл связывается на поверхности клетки, вероятно, включают электростатические взаимодействия, ван-дер-ваальсовы силы, ковалентное взаимодействие, комбинацию этих процессов [268, 285]. В случае физико-химического взаимодействия, основанного на физической адсорбции, ионном обмене и комплексообразовании между металлом и функциональными группами поверхности клетки, поглощение металлов не зависит от метаболизма [287, 384]. Показано, что за биосорбцию кобальта морскими водорослями могут быть ответственны электростатические взаимодействия [308]. Отрицательно заряженные группы – карбоксильные, гидроксильные, фосфорильные группы клеточной оболочки бактерий – адсорбируют катионы металлов силами электростатического поля. Сорбция металлов может также иметь место через комплексообразование

на поверхности клетки между металлами и металлсвязывающими белками [389]. Биосорбция урана и тория у *Rhizopus arrhizus* имеет механизм, основанный не только на физической адсорбции, но также и на комплексообразовании на клеточной стенке [379].

Бактерии могут использоваться как превосходный биосорбент для сорбции металлов, так как они имеют большую удельную поверхность связывания с активными центрами сорбции в бактериальных клеточных оболочках [268]. В частности, чистые микробные штаммы имеют чрезвычайно большие емкости селективного поглощения металлов из разбавленных металлсодержащих растворов [303, 326]. Экзополисахариды клеточной стенки бактерии *Clostridium* spp. способны осуществлять стабилизацию ионов  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Cr}^{+3}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$  в анаэробных условиях [326].

К максимальному снижению уровня концентрации ТМ в растворе способны бурые водоросли [337]. Различные виды водорослей сорбируют ТМ компонентами клеточных стенок. Среди этих водорослей отмечены бурые водоросли *Sargassum vulgare* [334], зеленая водоросль *Chlorella vulgaris* [369, 354] и бактерия *Citrobacter* sp. [266].

Деструкция *N. commune*, происходящая под влиянием Рb, выражается в уменьшении числа трихомов, в активном продуцировании слизи. Этот процесс стимулирует сорбирование ТМ. Чехлы ЦБ становятся толстыми с неровными краями [76].

Во многих работах доказана способность ЦБ к накоплению и детоксикации ТМ [22, 76, 191, 192]. Так, многие МО синтезируют внеклеточные полисахариды, которые активно связывают ТМ. Именно экзополисахаридам приписывают большую роль в детоксикации [253, 327, 328, 333]. В частности, установлен разный уровень извлечения Рb из жидкой среды: у *N. paludosum* около 80%, у *N. muscorum* – 91,3% от изначальной концентрации [224]. ЦБ *N. linckia* способна аккумулировать из ОС от 36 до 94% ионов Zn, Cu, Sr [56, 58].

*Внеклеточное взаимодействие.* Некоторые бактерии могут производить большое количество внеклеточных полимерных веществ (ВПВ), включая отрицательно заряженные функциональные группы [274, 319]. ВПВ могут связывать и аккумулировать катионогенные металлы, такие как магний, кадмий. Полимер из *Alteromonas macleodii* обладал сродством к свинцу, кадмию и цинку. Свинец поглощался избирательно, но между цинком и кадмием отмечали конкуренцию за одни и те же центры связывания [317].

Поверхности клетки грамположительных и грамотрицательных бактерий, живые или неживые, имеют множество функциональных групп, которые связывают ионы металлов с ВПВ. Они также содержат фосфатные, карбоксильные, гидроксильные и аминные функциональные группы. У грамотрицательных бактерий ВПВ состоят из полисахаридов и белков, которые менее жестко связаны с поверхностью клетки. Внешние полисахариды грамотрицательных бактерий представлены многими функциональными группами, например карбоксильными, гидроксильными, сульфатными, фосфатными и аминными группами, которые могут координационно взаимодействовать с ионами ТМ. Тейхоевые кислоты грамположительных бактерий, которые не закреплены в клеточной оболочке, вносят свой вклад в ВПВ. Поэтому они могут накапливать больше ионов ТМ, чем грамотрицательные бактерии [114]. Более того, для ЦБ доказана способность к дистанционной детоксикации, при которой система защиты ЦБ от ТМ включает связывание экзополисахаридами в культуральной среде [23, 29, 56, 105, 125]. Доля этих веществ в общем балансе может достигать 30% связываемого за 24 ч углерода или 40% чистой 24-часовой продукции фотосинтеза [286]. Следовательно, выделение большого количества слизи напрямую коррелирует с извлечением поллютантов из раствора.

### **3.2. Микроорганизмы – деструкторы органических соединений**

В настоящее время выделяют следующие типы процессов микробной трансформации органических веществ: 1) окисление; 2) восстановление; 3) декарбонирование; 4) дезаминирование; 5) гидролиз; 6) метилирование; 7) этирификация; 8) дегидратация; 9) конденсация; 10) изомеризация; 11) аминирование; 12) ацетилирование; 13) амидирование; 14) нуклеотизация. Наиболее изученный и широко используемый в промышленности процесс – реакция окисления.

*Углеводороды нефти.* Принято, что основную роль в деградации углеводородов нефти в почве играет бактериальная микрофлора, о чем свидетельствует большая численность бактерий по сравнению с грибами. Практически все эти организмы являются аэробными хемогетеротрофами, хотя среди них встречаются и фотогетеротрофные. К наиболее распространенным бактериям-деструкторам нефти относятся виды р. *Pseudomonas*: *Ps. putida*, *Ps. paucimobilis*, *Ps. vesicularis*, *Ps. desmolytica*, *Ps. dacunae*, *Ps. longa*, *Ps. pelliculosa* и другие. Широкая

распространенность этих организмов неслучайна. Они лучше приспособлены к использованию жидких легкокипящих н-алканов (C5-C10) и ароматических углеводородов, чем дрожжи и микобактерии. Наиболее часто отмечается использование полициклических углеводородов как единственного источника углерода и энергии представителями рода *Pseudomonas* [204].

Активными бактериями, разлагающими углеводороды, являются и нокардиоподобные бактерии, объединяемые в род *Rhodococcus*. Они участвуют в ассимиляции газообразных, жидких н-алканов, ароматических углеводородов. Поэтому бактерии родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus* считаются наиболее перспективными группами, на основе которых создаются биопрепараты, использующиеся для биодegradации углеводородов (алифатических, ароматических, полициклических) [142].

Проведенные исследования по сорбции и биодеструкции с использованием нетканого материала на основе полипропиленового и акрилонитрильного волокна с иммобилизованными клетками бактерий pp. *Pseudomonas* и *Rhodococcus* подтвердили целесообразность и перспективность использования биологического способа очистки загрязненной нефтепродуктами воды [139].

В другой работе впервые показана способность псевдомонад окислять углеводороды при 45 °С. Наиболее эффективными термотолерантными деструкторами нефти являются штаммы *Rhodococcus* sp. Par6 и Par7 и *Gordonia* sp. 1D, которые могут быть использованы при разработке биопрепарата для очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений [71].

Выделенные из образцов почвы с территории нефтеперерабатывающего завода Красноярского края психрофильные штаммы-нефтедеструкторы – *Pseudomonas* sp. 1.1, *Pseudomonas* sp. 4.1, *Rhodococcus* sp. 1.2 и *Rhodococcus* sp. 3.3 – обладают способностью к деструкции нефти при температурах 4–6 °С, что делает их перспективными агентами для ликвидации нефтяного загрязнения в условиях пониженных положительных температур. При этом штамм *Pseudomonas* sp. 1.1 оказался наиболее активным [49].

Из образцов почв Западной Сибири и Казахстана было выделено 46 штаммов МО-деструкторов нефти и дизельного топлива. Было выбрано 23 активных штамма-деструктора. Анализ спектра утилизированных субстратов выявил, что исследуемые микроорганизмы способны к утилизации н-алканов, моно- и полициклических ароматиче-

ских углеводородов (гексадекан, бензол, этилбензол, фенол, толуол и нафталин) в качестве единственного источника углерода и энергии. Эти штаммы, обладающие широким температурным диапазоном роста и спектром утилизируемых субстратов, могут быть перспективны для использования в составе биопрепаратов для биоремедиации почв, загрязненных преимущественно твердыми n-алканами [233].

Активными нефтедеструкторами являются ЦБ pp. *Agmenellum*, *Aphanocapsa*, *Lyngbya*, *Microcoleus*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Plectonema*. Они играют ведущую роль в процессах самоочищения объектов ОС [112].

Деструкторами НП могут выступать почвенные микромицеты, относящиеся к родам *Phoma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida* [156]. Установлено участие в деструкции нефтепродуктов и топлив ряда видов аспергиллов: *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. terreus*, *A. candidus*, *A. japonicus*. Освоение аспергиллами такой специфической ниши вполне объяснимо. Они характеризуются большой скоростью роста в самых разнообразных экологических условиях, способны развиваться при незначительной влажности субстрата, в пределах больших колебаний температур, длительный период сохраняться в латентном состоянии и не терять жизнеспособности под воздействием ряда экстремальных факторов [255].

Из торфяно-глеевых почв Крайнего Севера при нефтяном загрязнении было выделено более двух десятков почвенных микромицетов, относящихся более чем к 10 родам из отделов Zygomycota, Ascomycota и других, проявляющих высокую нефтедеструктивную активность. Их количественное соотношение в нефтезагрязненных почвах в 5–7 раз по массе мицелия превышало их содержание в фоновых почвах [234, 235].

Для очистки водной поверхности от нефти и НП используют изобретение, характеризующееся высокой биодеструкционной активностью при ликвидации интенсивных загрязнений в возрасте более трех месяцев. Это гидрофобный сорбент нефти на основе торфа и биомассы штаммов микромицета *Fusarium lateritium* НК-204, или *Gliocladium deliquescens* НК-205, или *Gliocladium deliquescens* НК-206, или консорциума этих штаммов, иммобилизованных в гидрофобный сорбент нефти посредством обрастания сорбента грибами [172].

**Пестициды.** Псевдомонады оказались эффективными и при разложении такого хлорсодержащего гербицида, как ацетохлор.

*Ps. oleovorans* в состоянии разлагать до 98% ацетохлора при концентрации 7,6 мг/л [391]. А штаммы *Pseudomonas* sp., *Ps. fluorescens*, *Ps. paucimobilis* были успешно использованы для биодеградации ипродиона в почве [320].

В целом разложение пестицидов могут производить микроорганизмы разных систематических групп. Например, выделенные из почвенных образцов на рисовом поле *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp., *Proteus* sp. способны производить разложение линдана [331].

Саратовскими учеными изучена биологическая активность почвы в условиях загрязнения гербицидом Гезагард и определена скорость деградации пестицида при использовании следующих технологических приемов: стимулирование автохтонной микрофлоры агротехническими приемами и внесение капсулированного и некапсулированного МО-деструктора – *Pseudomonas putida* П2. Выявлено, что интродукция штамма *Pseudomonas. putida* П2 в почву активизировала микробиологические процессы, ответственные за детоксикацию. Степень деструкции составила 70–80%. Применение только агроприемов без внесения деструктора стимулировало активность аборигенной микрофлоры в меньшей степени, а степень деструкции не превышала 13,5% [166]. Инкубация почвы с внесением одного из штаммов *Pseudomonas* sp. приводила за 15 дней к минерализации 90–100% внесенного гербицида атразина [347]. *Agrobacterium radiobacter* также в состоянии минерализовать атразин более чем на 90% за 72 ч [360].

Интенсивное потребление атразина – до 90% – отмечено для восьми видов диатомовых и зеленых водорослей. При этом способность к накоплению атразина у водорослей коррелирует с площадью клеточной поверхности [367].

Ключевым элементом консорциума микроорганизмов, разлагающего пестициды производные сим-триазина, являются целлюлозоразлагающие микроорганизмы. При этом микробиологическим анализом препарата консорциума было установлено, что основными видами являются *Sporocytophaga mixococcoides*, *Sorangium cellulosum*, *Cellvibrio mixtus*, *Trichoderma viridae*, а также сопутствующие им гетеротрофные бактерии *Ps. fluorescens*, *B. megaterium*, использующие продукты гидролиза полисахаридов глюкозу, маннозу, галактозу в качестве источника углерода и энергии [171].

Острая токсичность многих пестицидов для водорослей со временем снижается, о чем свидетельствует их активная вегетация в местах захоронения пестицидов [26].

По литературным источникам известно, что некоторые ЦБ способны разлагать фенилкарбаматные гербициды на анилин и хлорпроизводные. Так, ЦБ *Anabaena variabilis* способна к разрушению связи С-Р в гербициде глифосате [80].

*Синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ).* Процессы деструкции многих СПАВ в природе происходят очень медленно, так как у микробного населения отсутствует адаптация к этим веществам. Тем не менее они подвержены процессам естественной биodeградации. К этим процессам относится окисление, скорость которого зависит от структуры веществ, температуры окружающей среды, рН, присутствия иных веществ и т. п. Они окисляются отдельными видами бактерий родов *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia* и грибов *Aspergillus*, *Penicillium*. Есть указания на гидролитический характер некоторых процессов. Из промышленных отходов было выделено 13 штаммов бактерий, представленных грамположительными и грамотрицательными формами, относящихся к родам *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Kocuria*, *Stenotrophomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus* [211]. Изучение физиолого-биохимических свойств показало, что все изоляты способны усваивать углерод, азот и фосфор как основные источники энергии в органической и минеральной форме; обладают протеолитической, липолитической, эмульгирующей и фунгицидной активностью; способны усваивать основные компоненты сточных вод. При изучении их деструктивной способности по отношению к СПАВ установлено, что все штаммы способны к деградации анионных и катионных СПАВ. Это позволяет рассматривать возможность использования бактериальных культур для разработки способов очистки водных сред от СПАВ [210].

### **3.3. Влияние различных факторов на процессы сорбции и биodeградации поллютантов**

Подавляющее большинство изученных МО обладают определенной сорбционной активностью по отношению к ТМ и веществам органической природы. Скорость и величина биосорбции определяется многими факторами и зависит от вида и возраста культур МО, времени контакта, рН, концентрации загрязняющих веществ в окружающей среде. Показано, что биосорбция  $\text{Cu}^{2+}$  грибами *Ganoderma ligidum* и *Aspergillus niger* из водного раствора зависит от рН среды: связывание металла имело тенденцию к увеличению при рН от 2 до 6,

с максимумом между 5 и 6 [335]. Адсорбция ионов кобальта (II), никеля (II) и хрома (III) на *Ps. aeruginosa* сильно зависит от pH раствора. Процент адсорбции металла при более низких уровнях pH (1–3) был значительно ниже из-за конкуренции с ионами  $H^+$  за центры связывания на поверхности бактерий. Увеличение pH способствовало сорбции металлов главным образом за счет повышенного содержания отрицательно заряженных групп на поверхности клеток [114]. При тестировании бактерии ZAN-044 в жидком почвенном экстракте с низкой концентрацией Cd (1 мг/дм<sup>3</sup>) максимальный показатель биосорбции (69%) был достигнут при pH = 7 [312].

При исследовании многокомпонентной микробной системы в качестве биосорбента было показано, что уровень сорбции возрастает при повышении значения pH [314]. В противоположность этому снижение pH с 4,5 до 2,0 вызывало увеличение извлечения ТМ автотрофной бактерией *Thiobacillus* spp. Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Sr, Ti, Zn. Максимальное извлечение (более 90%) установлено для Cu и Pb, для Cd, Co, Ni, Sr – 60–80% [304]. При значениях pH < 2 было возможным селективное извлечение Ag и Au из растворов биомассой МО, отходов микробиологических производств антибиотиков (*Aspergillus terreus*, *Rhizopus arrhizus*, кормовых дрожжей) с отделением сопутствующих ТМ – Cu и Ni [110]. При этом биосорбционная активность изученных МО достигает 94–98,8%, такой же величины, как у активированного угля (98,8%).

Поглощение ионов определенных ТМ из ОС иногда регулируется другими ионами. Так, показано, что ионы  $Mg^{2+}$  регулируют поглощение ионов  $Ni^{2+}$  клетками бактерий р. *Pseudomonas*, защищая, таким образом, их от этого токсичного металла [378]. Особенности биосорбции ТМ из смешанных растворов клетками ЦБ *Spirulina platensis* существенно изменяются в зависимости от концентрации ТМ, состояния клеток и преинкубации с солями ТМ: сорбционная способность живых клеток выше, чем у мертвых, если концентрация таких ионов, как  $Co^{2+}$  или  $Mn^{2+}$ , не превышает  $0,1 \cdot 10^{-3}$  моль/л. При более высоких концентрациях этих ионов сорбция в обоих случаях близка для живых и инактивированных клеток и составляет около 1 мг металла на 1 г сухой биомассы. Преинкубация культуры ЦБ с солями кобальта и марганца приводит к тому, что сорбционные параметры инактивированных клеток превышают таковые показатели для метаболизирующих клеток [111].

Максимальной биосорбционной активности биопленок *Arthrobacter vicousus* (до 50–100%-ного удаления Pb из раствора) способствовало размещение биопленки на активированном угле [333]. Способностью в  $10\text{--}10^4$  раза концентрировать катионы ТМ обладают биопленки морских прокариот *Hyphomonas* sp. и *Shewanella colwelliana* за счет выделения экзополисахаридов [386].

Например, при экспонировании двух видов водорослей (*Chlorella pyrenoidosa* и *Scenedesmus obliquus*) при разных концентрациях  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  в течение восьми дней было отмечено, что эффективность удаления из среды соединений  $\text{Zn}^{2+}$  резко увеличивалась в 1-й день, затем стабилизировалась. Эффективность удаления соединений  $\text{Cu}^{2+}$  медленно нарастала в течение всего периода опыта. Во всех культурах количество обоих металлов, удаляемых интерцеллюлярно, было намного меньше адсорбируемых поверхностью клеток. Максимальная эффективность удаления обоих металлов из водных растворов приближалась к 100%. Ионы  $\text{Cu}^{2+}$  эффективнее удаляла *Chlorella pyrenoidosa*, чем *Scenedesmus obliquus*, который, в свою очередь, эффективнее удалял ионы  $\text{Zn}^{2+}$ , чем  $\text{Cu}^{2+}$  [394].

Размеры сорбции колеблются в зависимости от вида МО и формы присутствия ТМ в ОС [38]. При исследовании биоаккумуляции ионов  $\text{Cu}^{2+}$  клетками зеленой водоросли *Dunaliella viridis* было установлено, что при внесении в среду 10 мг/л  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в клетках обнаружилось до 1,8 г/кг ионов  $\text{Cu}^{2+}$  [53]. При изучении биоаккумуляции цинка, осуществляемой популяциями зеленой водоросли *Spirogyra fluviatilis*, установлено, что поглощение ионов  $\text{Zn}^{2+}$  усиливалось при возрастании его концентрации в среде вне зависимости от уровня органического загрязнения местообитаний [340]. Было установлено, что эффект удаления металла напрямую связан с высоким соотношением поверхности к объему в системе ЦБ-ТМ. Доказано при этом, что биомасса ЦБ, образующих экзополисахариды, может неоднократно использоваться в циклах сорбции-десорбции металла без снижения эффекта его удаления [327]. В серии опытов было показано, что к сорбции ряда ТМ (Cd, Cu, Pb, Mn, Zn) способны очищенные капсулярные полисахариды ЦБ. Потенциал насыщающего связывания полисахаридами этих металлов варьировал в пределах 1,2–4,0 мМ металла/г капсулы, что соответствует 1 металлоэквиваленту на 2–4 сахаридные субъединицы полимера [329].

При изучении сорбционной активности меланизированных грибов *Alternaria alternata* и *Aspergillus carbonarius* было показано, что

меланинсодержащая биомасса и чистые меланины микромицетов различаются по величине сорбционной емкости по отношению к различным ТМ, по селективности их извлечения из растворов, при этом очистка пигментов от других компонентов биомассы улучшает их сорбционные свойства [187]. Показано, что для биосорбции Ni важны amino-, амидо- и карбоксильные группы. Химическая модификация биомассы путем метилирования аминогрупп и эстерификация карбоксильных групп значительно снижает биосорбцию Ni, что подчеркивает их роль в биосорбции.

Отмечено влияние на биодоступность кадмия и цинка таких комплексообразователей, как ЭДТА, фитохелатины и цистеин. Отмечено как одиночное влияние комплексообразователей при различных pH, так и совместное. Подкисление ведет к уменьшению биодоступности [263]. Влияет на биодоступность меди для цианобактерий *Nostoc linckia* содержание в среде восстановленного глутатиона (GSH). При концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  в водном растворе 1 мг/дм<sup>3</sup> при увеличении мольной доли GSH к металлу от 1:1 до 1:4 наблюдается тенденция к возрастанию биодоступности [229]. Выявлено влияние природных органических веществ (гумусовые и другие полимерные природные компоненты, например, полисахариды и пептогликаны) на биодоступность и токсичность для некоторых микроорганизмов (бактерии и микроводоросли, обитающие в морской воде) компонентов нанопокровов, содержащих селен, цинк, серу, кадмий, галлий, титан, серебро и некоторые другие химические элементы. При исследованиях учитывалась возможность перехода элементов в водную среду в ходе применения и образования соединений с природными лигандами при различных уровнях кислотности. Было обнаружено ослабление действия ионов серебра цистеином. Уменьшение биодоступности связано не только со снижением проникающей способности ионов металла, но и с уменьшением возможности сорбироваться на поверхности клеток и, как следствие, снижать приклеточную концентрацию токсиканта [332, 334].

Широко распространенные бактерии серебряных рудников *Thiobacillus ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* накапливают около 250 мг/г сухой биомассы Ag. Количество связанного серебра зависит от условий проведения реакций – от pH, регулирующего степень ионизации поверхностных групп клетки, и от присутствия анионных лигандов в среде. Так, ЭДТА, сульфат, хлорид, фосфат, глутамат и карбонат ингибируют связывание ионов серебра клетками микроорганизмов.

Перспективны микробиологические методы сорбции и осаждения ионов металлов. Для извлечения металлов из растворов могут быть использованы представители различных таксономических групп. Так, клетки *Th. ferrooxidans* извлекают из раствора ионы Cd(II), Co(II), Cu(II), Cr(VI), Fe(III), Ni(II), Ag<sup>+</sup>, Au(III); цианобактерии – Cd(II), Au(III); клетки хлореллы – Cd(II), Ni(II), Co(II), Zn(II), Sr(II), Mo(II); дрожжи *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Rhodotorula mucilaginosa* – Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II); мицелиальные грибы рода *Aspergillus* – Co(II), Ra(II) [35].

Кроме того, на степень поглощения микроорганизмами поллютантов влияет форма нахождения культуры в среде. Показано, что цианобактериальные сообщества в виде пленок поглощают ТМ меньше, чем те же сообщества, но в гомогенизированном состоянии [58, 59].

Синтез специальных хелатообразующих веществ, облегчающих проникновение необходимых микроэлементов (например, Fe) в клетку, характерен для некоторых МО как фактор защиты от минеральной недостаточности [358]. Сидерофоры могут реагировать и с другими ТМ [271, 313].

При изучении влияния Cd на микроорганизмы было установлено, что его кристаллы скапливаются в оболочке микробной клетки [309].

На степень поглощения Cr<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> клетками водорослей влияют такие показатели, как значение pH, время нахождения водорослей в растворе с ТМ, концентрация организмов. Биосорбция ТМ максимальна в течение первых двух часов и возрастает с увеличением биомассы водорослей в диапазоне 5–15 мг/дм<sup>3</sup> [297].

Установлено влияние Cr на рост и развитие различных ЦБ, которое зависит от валентности данного ТМ: так, поглощение ионов Cr<sup>6+</sup> ЦБ *Spirulina platensis* на два порядка ниже по сравнению с ионами Cr<sup>3+</sup> [371].

В серии экспериментов была показана роль альгологически чистой культуры ЦБ *N. linckia* в сорбции поллютантов [56, 58, 105]. В качестве поллютантов использованы никель (Ni) в виде соли (NiSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) и НП – смазочная охлаждающая жидкость Алтек (этиленгликоль, пропиленгликоль, бура техническая, 3-этанолламин) в концентрациях 2 и 20 мг/дм<sup>3</sup>, а также их смесь. Выбор данных поллютантов обусловлен тем, что они являются одними из основных компонентов сточных вод машиностроительных предприятий, где есть гальванические цеха. В концентрации 20 мг/дм<sup>3</sup> они обычно поступают для внутренней очистки на предприятии. За 14 суток экспозиции ЦБ *N. linckia* в загрязненной

среде содержание токсикантов в культуральной жидкости существенно изменилось (табл. 57). Прослеживается определенная тенденция в поведении ЦБ на поглощение ТМ из культуральной среды: чем выше первоначальная концентрация токсиканта, тем полнее его связывание биомассой ЦБ и, соответственно, извлечение из среды. Например, при концентрации  $2 \text{ мг/дм}^3$  никеля его извлечение составляет 34%, а при  $20 \text{ мг/дм}^3$  – 41,2% (табл. 57) [56, 105].

Таблица 57

Остаточное содержание никеля и нефтепродуктов  
в культуральной жидкости *Nostoc linckia*

Вариант, доза токсиканта ( $\text{мг/дм}^3$ )	Метод определения		
	НП, ИВА*, $\text{мг/л}$	Ni, ИВА, $\text{мг/л}$	Ni, **ААС, $\text{мг/л}$
1. Контроль, 0	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
2. Ni, 2	Не определяли	$1,32 \pm 0,60$	$1,307 \pm 0,366$
3. НП, 2	$0,04 \pm 0,01$	Не определяли	Не определяли
4. (Ni+НП), 2	$0,14 \pm 0,04$	$1,38 \pm 0,62$	$1,175 \pm 0,329$
5. Ni, 20	Не определяли	$11,75 \pm 2,29$	$8,225 \pm 2,333$
6. НП, 20	$0,15 \pm 0,04$	Не определяли	Не определяли
7. (Ni+НП), 20	$0,88 \pm 0,22$	$11,13 \pm 2,67$	$9,150 \pm 2,521$

Примечание. \*ИВА – инверсионный вольтамперометрический анализ; \*\*ААС – атомно-абсорбционный метод.

Таким образом, уровень биосорбции токсикантов из жидкой среды ЦБ *N. linckia* может достигать почти 60% [56, 105].

Снижение концентрации ионов никеля несколько выше в присутствии гомогенизированной биомассы ЦБ, для меди различие недостоверно. Наиболее оптимальной для контакта формой ЦБ является гомогенат культуры, которую помещали в раствор с концентрацией ионов металлов  $20 \text{ мг/дм}^3$  (табл. 58) [105].

Таблица 58

Влияние формы нахождения природного комплекса с доминированием безгетероцистных ЦБ на снижение концентрации ионов меди(II) и никеля(II) из индивидуальных растворов с концентрацией

Форма нахождения комплекса в растворе	Ni <sup>2+</sup> , $\text{мг/л}$	Cu <sup>2+</sup> , $\text{мг/л}$
Пленка	$13,19 \pm 0,02$	$1,63 \pm 0,01$
Гомогенизированная культура	$11,06 \pm 0,02$	$1,95 \pm 0,02$

Использовали для контакта различные биомассы культур, соответствующие титру клеток  $(17,2 \pm 2,70) \cdot 10^9$  кл/мл,  $(8,6 \pm 1,35) \cdot 10^9$  кл/мл,

$(4,3 \pm 0,68) \cdot 10^9$  кл/мл,  $(2,2 \pm 0,34) \cdot 10^9$  кл/мл. Результаты представлены в табл. 59 [105].

Таблица 59

Влияние титра (биомассы) на остаточное содержание  
в растворе меди и никеля

Титр, $\cdot 10^9$ кл/мл	Ni <sup>2+</sup> , мг/л	Cu <sup>2+</sup> , мг/л
17,2±2,70	0,02±0,001	0,06±0,003
8,6±1,35	0,97±0,06	0,47±0,07
4,3±0,68	11,32±0,28	3,79±0,05
2,2±0,34	13,96±0,09	4,52±0,02

Установлено, что оптимальным титром для уменьшения концентрации ионов никеля и меди из раствора с концентрацией 20 мг/л является  $(17,2 \pm 2,70) \cdot 10^9$  кл/мл. Титр  $(8,6 \pm 1,35) \cdot 10^9$  кл/мл позволяет значительно (в 20–40 раз) снизить концентрацию ионов, меньшие титры концентрацию снижают существенно, но она остается далекой от значений ПДК [56, 105].

Максимальное снижение концентрации никеля из раствора сульфата никеля наблюдается через один час и через три часа после контакта, через сутки происходит эмиссия ионов металлов раствор. Максимальное снижение концентрации меди из раствора сульфата меди происходит через три минуты и сохраняется до 1одного часа, в дальнейшем происходит значительный переход ионов в раствор. Если говорить о снижении концентрации меди и никеля из раствора смеси солей, то для никеля приходится на первый час, а меди на третий час (рис. 46) [105].

Оптимальным временем для контакта ионов никеля с микроорганизмами является один час и три часа, для ионов меди – три минуты и один час, в случае если речь идет о растворах индивидуальных веществ указанных ТМ. Если имеется в виду смесь ТМ, то оптимальным временем контакта является один час, так как через это время наступает максимальное снижение общей концентрации металлов в растворе, и сутки, так как снижение значительное обоих металлов. К сожалению, снижение концентрации ионов металлов до уровня ниже ПДК в рамках изученных условий происходит только из индивидуальных растворов солей. Поэтому следует продолжать исследования в области поиска оптимальной биомассы для снижения концентрации из смесей ТМ до уровня ПДК и ниже [82, 105].

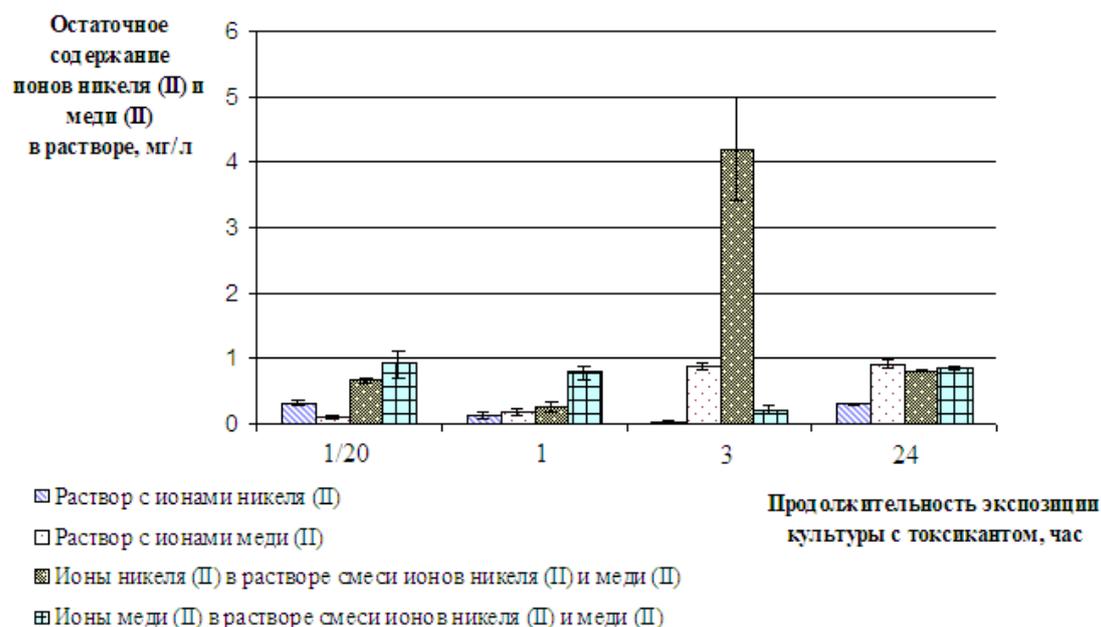


Рис. 46. Влияние продолжительности контакта культуры ЦБ с токсикантом на остаточное содержание токсиканта в растворе

К наиболее важным факторам, от которых зависит скорость биодegradации, относится температура. Для биодegradации углеводов оптимальна температура 30–40 °С, однако существуют микроорганизмы, способные окислять углеводороды как при более высоких, так и при более низких положительных температурах [41].

Микробная деструкция углеводов в умеренном и холодном климате хорошо изучена. Однако многие месторождения нефти находятся в регионах с жарким климатом, где метаболизм мезофильных и психротрофных штаммов лимитирован температурным фактором. При подборе состава консорциума для деструкции нефти в грунтах в жарком климате авторами были выделены 86 нефтеокисляющих штаммов из образцов грунта и воды географически удаленных регионов, из них 18 штаммов являлись термотолерантными и были идентифицированы как представители родов *Gordonia*, *Stenotrophomonas*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas* и *Rhodococcus*. Подтверждены данные о деструкции алканов штаммами *Gordonia*. Показана способность деструкции бактериями алканов и ПАУ при температуре 45 °С, в том числе в присутствии соли (3–10%). Наиболее эффективными термотолерантными деструкторами нефти являются штаммы *Rhodococcus* sp. Par6 и Par7 и *Gordonia* sp. 1D, которые могут быть использованы при разработке биопрепарата для очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений в условиях только жаркого климата, так как в усло-

виях холодного климата биодegradация нефти вследствие низкой активности микроорганизмов может длиться десятки лет [71].

Для утилизации углеводов нефти бактериями наиболее благоприятен нейтральный рН (от 6,5 до 8,0). Оптимальное развитие грибов и дрожжей происходит в кислой среде. В широком диапазоне рН развиваются смешанные популяции [41].

Среди всех веществ, имеющих на Земле, вода благодаря своеобразию своих физических и химических свойств занимает исключительное положение в природе и играет особую роль в жизни человека. Загрязненные природные воды ухудшают экологическую ситуацию в биогеоценозе. Утилизация и обезвреживание сточных вод составляют одну из самых важных экологических проблем настоящего времени. Одним из актуальных на сегодняшний день способов очистки сточных вод является биологическая очистка, протекающая в искусственно созданных условиях. Осуществляется она в аэротенках, биологических фильтрах и т. д., в которых сорбцию и деструкцию осуществляют МО (активный ил), находящиеся во взвешенном состоянии в очищаемой сточной воде. Биологический (или биохимический) метод очистки сточных вод применяется для очистки производственных и бытовых сточных вод от органических и неорганических загрязнителей. Данный процесс основан на способности некоторых МО использовать загрязняющие сточные воды вещества для питания в процессе своей жизнедеятельности [20, 29].

В такой биопленке могут присутствовать специально введенные в нее организмы, повышающие устойчивость и производительность микроорганизмов-деструкторов (биопленки контролируемого состава). В итоге введение дополнительных микробных компонентов, активирующих или защищающих основные микроорганизмы, формирующие подобные биореакторы, может существенно повышать эффективность всего процесса очистки сточных вод. В использовании такого подхода важным и одинаково необходимым является как формирование собственно биопленки, так и регулирование состава ее сообщества (биоаугментация) [159].

Группа углеводородокисляющих МО (УОМ) была выделена из действующих очистных сооружений. Установлено, что эффективность биодegradации нефти и НП, применяемой группой микроорганизмов, повышается в присутствии биогенных и биокатализирующих соединений до 75% по сравнению с контролем, где процент окисле-

ния 40%. Полученные результаты послужили основой для создания на их основе биопрепарата [199].

Но помимо почвы ТМ загрязняют водные источники. Поэтому было проведено определение сорбционных возможностей БП в водной среде. Выявлен высокий уровень биосорбции ТМ из водной среды БП по отношению к ионам  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$ , причем отмечена повышенная поглощательная способность гомогената по сравнению с пленкой. Для определения сорбционной способности *N. commune* по отношению к ионам никеля(II) и меди(II) при различных условиях контактирования были взяты БП, отобранные вблизи автодороги (АД). Для этого навески сухих БП 0,2 г на 1  $\text{дм}^3$  раствора помещали в растворы солей никеля и меди с концентрациями 2 и 20  $\text{мг/дм}^3$ , а также в смесь солей с аналогичными концентрациями каждого металла в смеси (доза-концентрация БП в таких условиях составляет 0,8  $\text{г/дм}^3$ ) [56, 226, 227].

Остаточное содержание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  определяли в фильтрате после суточного выдерживания в растворе токсикантов. При этом использовались БП природные и очищенные от ТМ (табл. 60). Сорбционные возможности очищенной от ТМ БП оказались выше. Скорее всего, при выращивании на питательной среде остались виды с большим сорбционным потенциалом и содержащиеся до очистки в БП ТМ препятствовали поглощению ионов  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  [56].

Таблица 60

Остаточное содержание металлов в растворе после контакта с биопленкой *Nostoc commune* до и после очистки

Вариант	Остаточное содержание ионов металла в растворе, мг/л			
	$\text{Cu}^{2+}$		$\text{Ni}^{2+}$	
	до очистки	после очистки	до очистки	после очистки
2 $\text{Cu}^{2+}$	0,41±0,06	0,09±0,002	–	–
20 $\text{Cu}^{2+}$	4,10±1,90	2,65±0,02	–	–
2 $\text{Ni}^{2+}$	–	–	0,23±0,01	0,03±0,001
20 $\text{Ni}^{2+}$	–	–	10,27±1,74	4,97±0,001
2 $\text{Ni}^{2+}$ + 2 $\text{Cu}^{2+}$	0,30±0,03	0,10±0,03	0,21±0,002	0,06±0,002
20 $\text{Ni}^{2+}$ + 20 $\text{Cu}^{2+}$	1,53±0,23	3,14±0,03	12,27±1,06	8,36±0,03

Примечание. «–» – не определяли.

После выявления значимости предварительной очистки МО на их сорбционные свойства провели исследование влияния формы контактирования (гомогенат и пленка) на способность сообщества очи-

щать раствор от  $Me^{2+}$ . Продолжительность контакта этих структур с токсикантами в водной среде составила одни сутки (табл. 61, 62).

Таблица 61

Остаточное содержание металлов в растворе после контакта с культурой *Nostoc commune* в виде пленки и гомогената (у автодороги)

Вариант	Остаточное содержание ионов металла в растворе, %			
	$Cu^{2+}$		$Ni^{2+}$	
	пленка	гомогенат	пленка	гомогенат
2 $Cu^{2+}$	20,5	4,5	–	–
20 $Cu^{2+}$	20,5	13,25	–	–
2 $Ni^{2+}$	–	–	11,5	1,5
20 $Ni^{2+}$	–	–	50,0	24,5
2 $Ni+2Cu^{2+}$	15,0	5,0	10,5	0,3
20 $Ni+ 20 Cu^{2+}$	17,65	5,7	61,35	41,8

Примечание. «–» – не определяли.

Таблица 62

Остаточное содержание металлов в растворе после контакта с культурой в виде пленки и гомогената (у железной дороги)

Вариант	Остаточное содержание ионов металла в растворе, %			
	$Cu^{2+}$		$Ni^{2+}$	
	пленка	гомогенат	пленка	гомогенат
2 $Cu^{2+}$	4,7	2,6	–	–
20 $Cu^{2+}$	15,7	8,3	–	–
2 $Ni^{2+}$	–	–	6,5	2,0
20 $Ni$	–	–	32,6	30,5
2 $Ni^{2+} + 2 Cu^{2+}$	4,1	2,8	8,5	4,0
20 $Ni^{2+} + 20 Cu^{2+}$	21,1	15,6	48,1	42,5

Примечание. «–» – не определяли.

Остаточное содержание  $Me^{2+}$  в растворе после контакта с гомогенатом меньше, чем в пленке. Очищенная пленка от железной дороги (ЖД) сорбирует оба металла полнее почти во всех вариантах, чем пленка от АД. В вариантах со смесью ионов при концентрации 2 и 20 мг/дм<sup>3</sup> остаточное содержание  $Ni^{2+}$  больше после контакта с гомогенатом от ЖД, чем с гомогенатом культуры от АД. Можно предположить, что повышенная сорбция пленок и гомогенатов от ЖД связана с высвобождением функциональных групп в оболочках клеток культуры при выращивании, поэтому увеличивается поглотительная емкость биопленок. Поглотительная способность гомогената выше,

что может быть связано с большей площадью соприкосновения с раствором [56, 226, 227].

Емкость поглощения зависит от многих факторов, в том числе от количества металлов в биопленке, количества  $Me^{2+}$  в растворе и формы контактирования. Так, неочищенная пленка массой 1 г сорбирует 2,2 мг Ni и 2,0 мг Cu из растворов с концентрацией металлов 2 мг/дм<sup>3</sup> и 10,9 мг и 20,0 мг из растворов с концентрацией ТМ 20 мг/дм<sup>3</sup> соответственно. После очистки культуры емкость поглощения увеличилась. Очищенная пленка массой 1 г сорбирует 2,3 мг Ni и 2,2 мг Cu из растворов с концентрацией ТМ 2 мг/дм<sup>3</sup> и 13,0 мг и 20,3 мг из растворов с концентрацией 20 мг/дм<sup>3</sup> соответственно [56, 105].

Емкость поглощения увеличивается после гомогенизации культуры. Составляет 2,4 мг Ni и 2,4 мг Cu из растворов с концентрацией ТМ 2 мг/дм<sup>3</sup> и 16,7 мг и 22,9 мг соответственно из растворов с концентрацией 20 мг/дм<sup>3</sup> [56].

Наличие взаимоотношений между фото- и гетеротрофами в ассоциациях усиливает деструкцию, например, этилендиамина. Это было доказано при создании искусственного альго-цианобактериального комплекса на основе водоросли *Scenedesmus acutus* и несколько чистых культур ЦБ, выделенных из загрязненной этилендиамином почвы. Доказано, что ЦБ влияют на рост и активность бактерий-деструкторов таких соединений, как фенол, дихлорацетат, дихлорфенолуксусная кислота. Таким образом, еще раз подтверждается факт, что среди фототрофных групп микроорганизмов данные МО являются активными биодеградантами органических токсикантов [85].

В одинаковой мере способностью к сорбции обладают не только живые, но и лиофилизированные клетки ЦБ. БП, состоящие в основном из *Phormidium* sp. и *Mastigocladus laminosus*, связывают ТМ в порядке: Cu>Zn>Pb>Cr [56, 78]. К извлечению ТМ из растворов и запасанию их в виде фосфатов способны живые и убитые клетки ЦБ *Plectonema boryanum* [377]. ЦБ *Gomphosphaeria aponia*, обитающая в Атлантическом океане, сорбирует Fe и откладывает его в виде гидроокисей на своей клеточной оболочке [240].

С помощью разработанного авторами данной монографии тетразольно-топографического метода биотестирования среды было доказано, что применение популяций ЦБ как биоремедиаторов, способных к детоксикации поллютантов, и биотестеров, высоко чувствительных к наличию загрязняющих веществ, определяется плотностью

их популяций и степенью агрегированности клеток: в форме БП ЦБ – организмы-деструкторы и сорбенты поллютантов [79, 125].

Динамика поглощения металла в процессе совместного культивирования бактерий и ЦБ показывает, что в смешанной культуре может происходить более эффективная очистка ванадиевых стоков, чем в чистой культуре. При однократном добавлении металла содержание ванадия в культуральной жидкости в ранних вариантах смешанно-раздельного культивирования снижается на вторые сутки в 1,5–2,0 раза, а на девятые сутки – в 2,6 раза [16].

В наших работах были использованы биопленки *N. commune* – природные многовидовые структурированные сообщества фототрофных и сапротрофных МО, обитающих в любом регионе планеты. Различные группы микроорганизмов, входящие в состав биопленок, обладают разными механизмами устойчивости, что делает эти уникальные природные комплексы перспективным объектом в разработке методов оценки состояния окружающей среды с проведением биоремедиационных мероприятий [29, 56, 76].

Далее с помощью метода атомно-адсорбционной спектроскопии была доказана способность природных БП с доминированием *N. commune* к извлечению ТМ из окружающей среды в природных условиях.

Цианобактериальные пленки, являясь накопителями ТМ, отражают экологическую напряженность экотопа. В пленках вблизи железной дороги (ЖД) содержание Zn, Ni, Mg и Cu значительно превышает таковое в пленках от автодороги (АД). Этот факт объясним тем, что в почвы вблизи ЖД указанные ТМ попадают при работе железнодорожного транспорта. Образцы пленок, отобранные у АД, отличаются более высоким содержанием Pb, что вполне объяснимо: многие годы использование этилированного бензина привело к его накоплению в почве (рис. 47) [56].

Благодаря своим особенностям ЦБ обладают свойством концентрировать ТМ, тем самым очищая от них почву [56, 78, 226, 227].

В следующей серии опытов использованы природные пленки ЦБ с доминированием ЦБ р. *Phormidium*. Комплекс безгетероцистных ЦБ включает в себя следующие виды ЦБ: *Phormidium ambiguum*, *Phormidium boryanum*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Plectonema boryanum*. Пленки отобраны с поверхности почвы в промышленной зоне г. Кирова. На их примере изучали способность к сорбции ТМ [56].

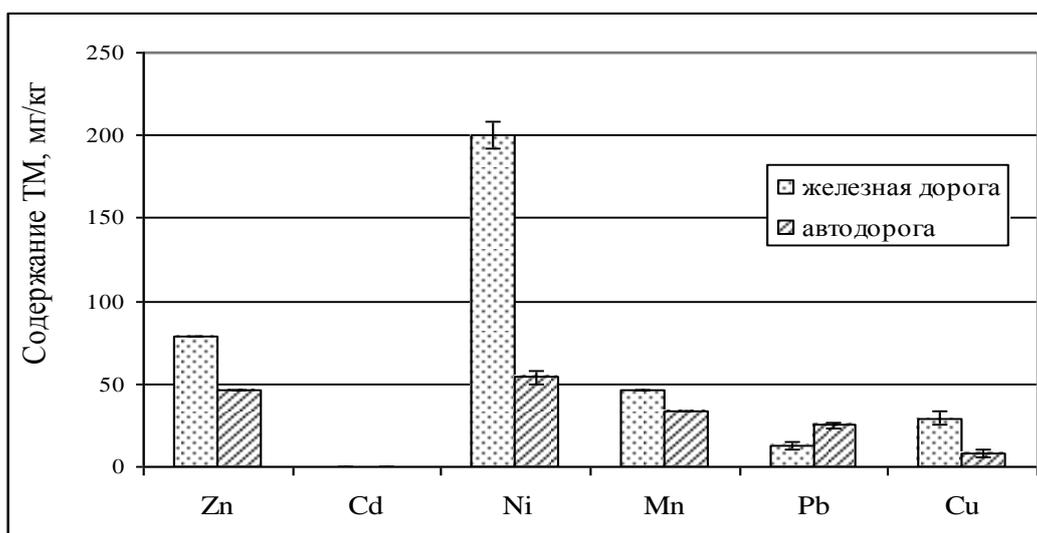


Рис. 47. Содержание некоторых тяжелых металлов в природных пленках *Nostoc commune* различных экотопов

Помещенные в жидкую питательную среду различные штаммы ЦБ по мере роста приобретают текстуру, напоминающую псевдо-ткань, состоящую из переплетенных трихомов и нитей. В подобной пленке доступ ТМ к отдельным клеткам затруднен, и, вероятно, пленки должны быть более стойкими к действию токсикантов. Поэтому возникает необходимость сравнить способность биопленок и гомогената к сорбции ТМ. Опыт проводили с биомассой многовидовой биопленки с доминированием ЦБ р. *Phormidium*, 0,024 мг/100 см<sup>3</sup> раствора; концентрация токсикантов по иону ТМ составляла 20 мг/дм<sup>3</sup>; продолжительность экспозиции одни сутки. Результаты опыта представлены в табл. 63. Опыт показал, что цианобактериальный комплекс снижает концентрацию токсиканта на 90–92% в случае с Cu<sup>2+</sup> и до 34–45% при действии Ni<sup>2+</sup>. При этом большей способностью к уменьшению концентрации Me<sup>2+</sup> в растворе обладают ЦБ в виде гомогената, что обусловлено увеличением поверхности раздела фаз при гомогенизации и повышением сорбционной емкости [56, 173, 174, 227].

Таблица 63

Влияние гомогенизации на остаточное содержание ионов ТМ в растворе

Варианты	Остаточное содержание металлов, мг/дм <sup>3</sup>	Снижение концентрации металлов в растворе, %
Ni <sup>2+</sup> (пленка)	13,19±0,01	≈34
Ni <sup>2+</sup> (гомогенат)	11,07±0,02	≈45
Cu <sup>2+</sup> (пленка)	1,96±0,01	≈90
Cu <sup>2+</sup> (гомогенат)	1,63±0,01	≈92

В дальнейшем было проведено изучение зависимости остаточной концентрации ТМ от биомассы ЦБ, а также выявление той биомассы ЦБ, при которой остаточное содержание ионов Cu и Ni достигает значений, меньших ПДК (0,1 мг/дм<sup>3</sup> для воды водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования). В опыте использованы биопленки с биомассой 0,002; 0,003; 0,006; 0,031 г/см<sup>3</sup> (табл. 64) [56].

Таблица 64

Влияние биомассы цианобактерий на остаточное содержание Cu<sup>2+</sup> и Ni<sup>2+</sup> в растворе

Биомасса ЦБ, г/100 см <sup>3</sup>	Титр ( $\cdot 10^9$ ), кл./см <sup>3</sup>	Остаточное содержание ТМ в растворе, мг/дм <sup>3</sup>	
		Ni <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>
0,002	2,15	13,96±0,09	4,52±0,02
0,003	4,3	11,32±0,28	3,79±0,05
0,006	8,6±1,35	0,97±0,06	0,47±0,07
0,031	10,9±1,56	0,04±0,01	<b>0,10±0,02</b>

*Примечание.* Жирным шрифтом отмечено снижение содержания ионов металлов до уровня ПДК.

При концентрации ТМ 20 мг/дм<sup>3</sup> и продолжительности экспозиции одни сутки остаточное содержание ионов ТМ в растворе значительно уменьшается. Показано, что чем больше биомасса, тем меньше остаточное содержание ТМ (табл. 63). При малых значениях биомассы ЦБ (< 0,006 г/100 см<sup>3</sup>) сорбционной емкости для детоксикации не хватает. При биомассе 0,006 г/см<sup>3</sup> происходит резкое снижение остаточной концентрации ионов металлов в растворе. Наиболее эффективным является содержание биомассы ЦБ около 0,03 г/100 см<sup>3</sup> раствора: именно в этом случае происходит снижение содержания ионов Me<sup>2+</sup> до уровня ПДК и ниже [56].

Известно, что связывание Me<sup>2+</sup> клеточной поверхностью максимально происходит в первые минуты контакта. Затем следуют медленные процессы переноса металла в цитоплазму клетки. Это энергозатратный процесс. Поэтому возникла необходимость проанализировать влияние продолжительности контакта на остаточное содержание металла в растворе. Для этого довели титр исследуемой биопленки с доминированием р. *Phormidium* до величин (1,10±0,15)·10<sup>10</sup> кл./см<sup>3</sup>, что составляет 0,031 г /100 см<sup>3</sup>, в растворах сульфата Ni и Cu с концентрацией ионов ТМ 20 мг/дм<sup>3</sup>. Варьировали продолжительность контакта ЦБ с растворами ТМ [56].

*Действие ионов меди(II).* Выявлено, что уже через один час после контакта ЦБ с ионами ТМ (начальная концентрация 20 мг/дм<sup>3</sup>) содержание последних в растворе резко уменьшается: на 99% в случае индивидуальной соли и на 96% в смеси солей (табл. 65).

Таблица 65

Остаточное содержание токсиканта после контакта с пленкой с доминированием р. *Phormidium*, мг/дм<sup>3</sup>

Вариант	Продолжительность контакта		
	Один час	24 часа	14 суток
Cu <sup>2+</sup>	0,10±0,02	0,18±0,03	0,90±0,06
Cu <sup>2+</sup> в смеси	0,25±0,07	0,29±0,02	1,33±0,03

Однако более продолжительный контакт культуры с токсикантом замедляет скорость снижения концентрации Cu<sup>2+</sup> в растворе (происходит даже некоторое ее увеличение) (рис. 48). Это становится заметным уже через 24 часа контакта, а через 14 суток повышение концентрации Cu<sup>2+</sup> в растворе становится очевидным [56].

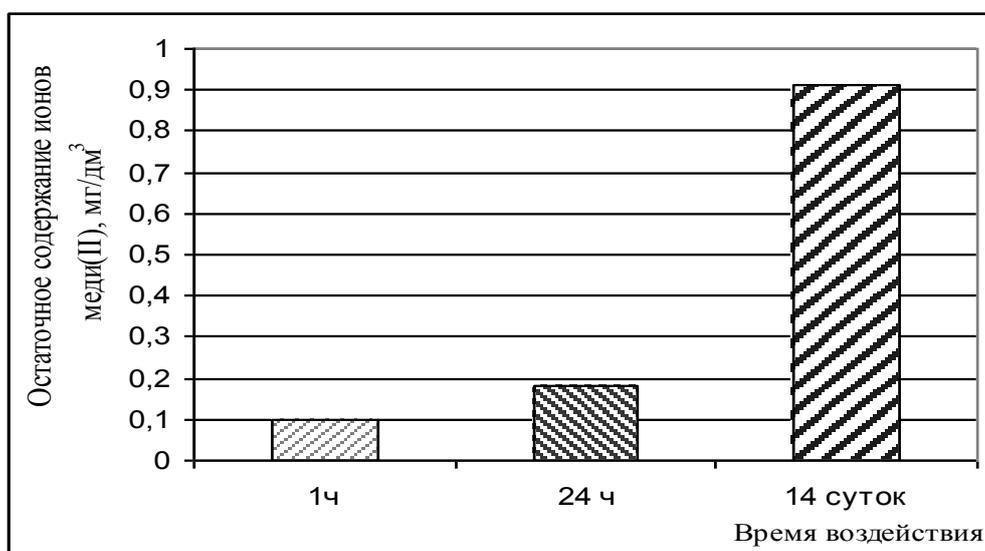


Рис. 48. Остаточное содержание ионов меди(II) в зависимости от времени контакта

Данный факт можно объяснить с двух позиций. Во-первых, культура адаптируется и выбрасывает часть ионов, поступивших первоначально, из клетки в окружающую среду. В этом проявляется адаптация организмов к условиям обитания. Во-вторых, повышение содержания ТМ в растворе может быть вызвано разрушением клеточных стенок МО и, соответственно, пассивным выходом ионов в

раствор. Возможно одновременное влияние обоих факторов, хотя уменьшение феофитина в клетках, ослабление ПОЛ, усиленная каталазная активность и увеличение содержания хлорофилла *a* через сутки указывают все-таки прежде всего на адаптацию организмов [56].

Таким образом, выявлена высокая способность гомогената цианобактериальных пленок с доминированием р. *Phormidium* снижать концентрации ионов меди(II) при часовом воздействии до уровня ПДК. При этом из индивидуальных растворов с максимальной концентрацией 20 мг  $\text{Cu}^{2+}/\text{дм}^3$  степень очистки составляет 99%. Из растворов, содержащих ионы меди(II) с ионами никеля(II), концентрация меди снижается на 96%.

*Действие ионов никеля(II).* В фильтрате определяли остаточное содержание  $\text{Ni}^{2+}$  сразу после внесения биопленок в токсикант, а также через 1, 3, 24 часа (табл. 66) [56].

Таблица 66

Влияние продолжительности контактирования на эффективность сорбции биопленки с доминированием р. *Phormidium*

Продолжительность контактирования, ч	Остаточное содержание ионов никеля (II), мг/дм <sup>3</sup>	
	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ в смеси с $\text{Cu}^{2+}$
0	0,31±0,05	0,67±0,04
1	0,13±0,05	0,25±0,07
3	0,04±0,02	4,2±0,8
24	0,29±0,02	0,84±0,03

Как следует из результатов, приведенных в таблице 66,  $\text{Ni}^{2+}$  из смеси извлекается в меньшей степени, чем индивидуально. Данная зависимость может быть обусловлена тем, что  $\text{Cu}^{2+}$  токсичнее  $\text{Ni}^{2+}$  и извлекается в первую очередь. Оптимальное время контактирования – один час. Уже через сутки происходят процессы десорбции ионов ТМ в культуральную жидкость, которые возможно связаны с адаптацией. Через 14 суток происходит увеличение остаточной концентрации  $\text{Ni}^{2+}$  (табл. 67). Это может быть следствием адаптации, механизм которой заключается в связывании ионов ТМ с серосодержащими соединениями и выходом ТМ в культуральную жидкость вместе с сульфатным остатком [56, 173, 174, 227].

Остаточное содержание ионов никеля в растворе под биопленками с доминированием р. *Phormidium*, мг/дм<sup>3</sup>

Вариант	Продолжительность контактирования, сутки	
	1	14
2 Ni	0,12±0,03	1,32±0,33
20 Ni	0,14±0,04	3,06±0,77
2 Ni (из смеси)	0,20±0,05	0,73±0,18
20 Ni (из смеси)	0,61±0,15	3,69±0,92

При проведении очистки воды от ионов ТМ нет необходимости в постоянном встряхивании, достаточно перемешать культуру ЦБ в растворе, содержащем ТМ, 1–2 раза в течение времени контакта (один час). Пленки могут широко применяться в очистке природных сред от  $\text{Cu}^{2+}$ . Большинство способов не подходит для этих целей из-за своей потенциальной токсичности. Данный объект, являясь природным почвенным разрастанием фототрофов, не содержит патогенов и токсиногенов. С помощью биосорбента представляется возможность очистки прудов, рек и других водных объектов в городской черте, предотвращения аккумуляции в среде токсикантов [56].

### 3.4. Роль микроорганизмов в детоксикации загрязняющих веществ

В условиях антропогенного воздействия на биосферу одной из важнейших задач является изучение путей поступления и иммобилизации загрязняющих компонентов. Особую нагрузку испытывает почвенный покров. Техногенное загрязнение компонентов биосферы приводит к тому, что именно почвенная биота выполняет важную экологическую функцию – детоксикацию различных соединений, в том числе ТМ, пестицидов и других, присутствующих в почве и влияющих на состояние ОС. Следовательно, МО входят в основной генофонд, который противостоит изменениям биосферы [52, 56, 91, 100, 136, 262].

Процессы самоочищения в водоеме определяют возможности снижения токсичности поступающих в водоемы стоков. Один из основных процессов самоочищения – сорбция загрязнителей. В местах выпусков очищенных бытовых стоков в реку поступают частицы активного ила, которые формируют зону с особым качеством взвешенных веществ: они имеют высокое содержание органического веществ-

ва, а значит, потенциально высокую сорбционную способность. Высокая удельная поверхность активного ила позволяет оценить их как материал для использования в очистке речных вод от различных поллютантов антропогенного происхождения. Высокая кислотно-основная буферность активного ила, по сравнению с песком и песчаными донными отложениями, характеризует их как твердую среду с высокими потенциальными возможностями по удержанию ТМ [35, 98, 244].

В почве одновременно с веществами неживой природы в процессе сорбции МО принимают непосредственное участие. Показано, что МО различных таксономических групп способны сорбировать и трансформировать трансурановые элементы и ТМ, что обуславливает важную роль микробиоты в процессах самоочистки природных объектов (почв, водоемов) от радиоактивных загрязнений. Выявлено существенное повышение трансформирующей (радионуклиды) активности МО за счет сочетания их сорбционных свойств и способности восстанавливать ионы трансурановых элементов и металлов [238].

Комплексное исследование динамики сорбции технеция, плутония, кюрия и нептуния илами позволило сделать вывод, что при попадании радионуклидов в пресные водоемы они будут полностью удалены из водной фазы за один летний сезон. Основным механизмом удаления технеция (на 98%) является его бактериальное восстановление до хорошо сорбируемой формы Tc(IV), тогда как механизм удаления актиноидов включает две фазы: физико-химическую сорбцию (до 34%) и биологическую (до 65%). Доказана и апробирована в лабораторных условиях эффективность использования для очистки растворов от радионуклидов МО, обладающих высокой восстановительной активностью, обеспечивающей существенное увеличение сорбционной способности бактериальных клеток. Для очистки радиоактивных отходов с низкой активностью разработана и испытана модельная лабораторная система на основе иммобилизованных клеток сульфатредуцирующих бактерий, обладающих нитратредуктазной активностью [238].

В процессах деградации токсикантов в ОС активно участвуют различные группы МО, которые реально использовать для разработки методов биоремедиации объектов ОС. Для этого необходимо работать со штаммами МО, обладающих высокой скоростью наращивания биомассы, способных сорбировать и разрушать загрязняющие вещества. В подобных исследованиях доказана активная ремедиационная

роль как отдельных видов бактерий, водорослей, микромицетов, так и многовидовых консорциумов [39, 56, 97, 189, 273, 277, 298, 381].

В ряде исследований показано, что использование микробов-сорбентов в процессах очистки сточных вод приводит к более быстрому извлечению загрязнителей, чем химическим путем [239]. При определенных условиях роль МО в процессах деградации пестицидов оценивается от 10 до 70% [99]. Самоочищение загрязненных НП территорий без использования МО в качестве сорбентов может длиться десятки и даже сотни лет, тогда как их микробная деградация осуществляется при определенных условиях за несколько лет [207, 233].

Эффективная биоочистка экосистем требует использования биоты с высокой устойчивостью к воздействию поллютантов. Например, МО вследствие высокой сорбционной способности по отношению к ТМ способны снижать их токсичность. Вероятно, скорость аккумуляции зависит от возраста культуры. Однако и мертвые клетки МО способны аккумулировать ТМ на уровне живых клеток [16].

Очень часто физико-химические технологии для удаления ТМ дороги и неэффективны при низких исходных концентрациях ТМ. Поэтому резко возрастает интерес к разработке методов биологической очистки. Например, перспективными объектами в этом плане являются микроскопические грибы. У микромицетов четко проявляется связь между уровнем загрязнения почвы и численностью грибов, содержащих меланиновые пигменты [56, 73, 86, 215]. При этом выживание грибов в экстремальных условиях обеспечивается более совершенным энергетическим обменом, чем у бактерий [90, 91]. Кроме того, отдельные виды микроскопических грибов сорбируют ТМ преимущественно клеточной стенкой [215, 269, 276, 277]. К биосорбции способны такие компоненты клеточной стенки, как органические кислоты, меланины, пептиды, полисахариды, жирные кислоты и хитин.

Такие металлы, как Pt и Au, практически полностью удаляются некоторыми штаммами почвенных грибов при концентрации поллютантов 50 мг/дм<sup>3</sup> в течение 72 ч [322].

Грибы, выделенные из почв с большим содержанием ТМ, могут накапливать в своей биомассе от 0,3 до 1,5% Cu и Ni на абсолютно сухую массу [90]. Такой микромицет, как *Rhizopus arrhizus*, способен поглощать различные катионы ( $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{+}$ ) и анионы металлов. При этом усвоение молибдат- и ванадат-анионов сильно зависит от pH. Выдвигается предположение, что механизм сорбции включает в себя электростатическое притяже-

ние к положительно заряженным функциональным группам [373]. Для другого микромицета *Verticillium marquardii* появились данные о способности поглощения Zn до 80% из щелочного черного шлака, который содержит 20% металла [56, 352, 353].

Дрожжи родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia* используют в качестве биосорбента для Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, U, Th, Zn [141]. Большинство дрожжей может поглощать или широкий спектр ТМ, или быть строго специфичным в отношении только одного металла [141, 330]. Например, для *S. cerevisiae* доказана способность к улавливанию Zn, Cu и U из разбавленных водных растворов при pH = 4–5 [385]. При загрязнении сточных вод Cu дрожжи *S. cerevisiae* способны уменьшать концентрацию ТМ до шести раз. Способность сохранять высокие показатели выживаемости и эффективности поглощения данной культурой отмечены до концентрации сернокислой меди 300 мг/дм<sup>3</sup>. Наибольшие значения сорбирования (от 88,7% до 99,6%) ТМ отмечаются в течение 24 ч при pH = 5–8 и количестве биомассы культуры 10 г/дм<sup>3</sup> [48]. Другой вид дрожжей *S. bergensis* эффективен в очистке сточных вод от Cu<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Cr<sup>3+</sup> в концентрациях 3–60; 40–195; 10 мг/дм<sup>3</sup> соответственно. Сорбция Cu<sup>2+</sup> происходит за 3–4 ч на 99,8–100 %, Ag<sup>+</sup> за 2–4 ч на 99–100%, Cr<sup>3+</sup> за 94 ч контакта на 95% [36]. Интересен факт, что мертвые клетки дрожжей *S. cerevisiae* удаляют примерно на 40% больше U и Zn, чем соответствующие живые культуры [56, 385].

При использовании как жизнеспособных, так и нежизнеспособных дрожжей *Pichia stipitis* была доказана способность к удалению из водных растворов Cu<sup>2+</sup> и Cr<sup>3+</sup> [393].

Сорбционными способностями обладают и плесневые микромицеты. Зарегистрирован способ очистки воды от As с использованием грибов р. *Penicillium*. Это дает возможность извлечь As из раствора концентрацией 512 мг/дм<sup>3</sup> на 99,8%. При очистке от Cr сорбция ТМ мицелием *A. flares* при исходной концентрации Cr<sup>6+</sup> 11,4 мг/дм<sup>3</sup> и Cr<sup>3+</sup> 0,39 мг/дм<sup>3</sup> составила 72,8% [35, 56].

### 3.5. Прикладное значение процессов сорбции и биodeградации

Высокая сорбционная способность по отношению к ТМ нашла отражение в создании и патентовании множества биосорбентов.

В способе биологической очистки водных растворов от хрома сорбция мицелием грибов *Aspersillus flares* при исходной концен-

трации хрома(VI) 11,4 г/л и хрома(III) 0,39 г/л степень очистки составляет 72,8% [187].

Контактирование водных растворов  $\text{CuSO}_4$  с суспензией гомогенизированной культуры с доминированием безгетероцистных цианобактерий рода *Phormidium* в течение 1–3 часов в соотношении 0,2 г биомассы на один литр раствора с максимальной концентрацией  $\text{Cu}^{2+}$  20 мг/дм<sup>3</sup> степень очистки составляет 95,7–99,4% [56], что соответствует снижению концентрации меди до уровня, близкого к ПДК (0,1 мг/дм<sup>3</sup>). Уже в первые минуты после контакта концентрация металла снижается на 99,4%. Из растворов, содержащих смесь с ионами меди(II), за промежуток времени, равный 1–3 часам, концентрация меди снижается на 98,9%. При проведении очистки воды от ионов меди нет необходимости в постоянном встряхивании, достаточно перемешать культуру ЦБ в растворе, содержащем ионы  $\text{Cu}^{2+}$ , 1–2 раза в течение времени контакта (от 1 до 3 часов). Достижение необходимого положительного результата стало возможным при следующем составе доминирующих видов: *Phormidium ambiguum* (Jom.), *Phormidium boryanum* Kütz., *Leptolyngbya foveolarum* Rabenhorstex Gom, *Plectonema boryanum* Gom. f. *boryanum* [173]. Подобный эффект наблюдается и по отношению к ионам никеля. Контактирование водных растворов  $\text{NiSO}_4$  с суспензией гомогенизированной культуры от 1 до 3 часов в соотношении 0,2 г биомассы на литр раствора с концентрацией  $\text{Ni}^{2+}$  20 мг/дм<sup>3</sup> степень очистки составляет 99,4–99,9%, что соответствует снижению концентрации никеля до уровня ПДК (0,1 мг/дм<sup>3</sup>) и менее. Уже в первые минуты после контакта концентрация металла снижается на 98,5% [56, 174].

Большой сорбционный потенциал отмечен у родококков, способных извлекать металлы из загрязненных естественных мест обитания. В предложенном способе извлечения металла цезия авторы используют виды *Rhodococcus erythropolis* CS 98 и *Rhodococcus* sp. CS 402. Решаются задачи по подбору оптимальных условий эффективного извлечения цезия с учетом температуры, pH, источника углерода, соотношения ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Cs}^+$  в среде культивирования [375].

Оптимальными условиями, при которых происходит интенсивное (от 49 до 70%) извлечение металлов Zn, Cd, Pb из среды, оказались следующие: температура 25–28 °C; pH 7,8–8,0; источник углерода – ацетат аммония; присутствие металлов (Pb, Zn или Cd) в концентрации от 0,29 до 2,47 мг/дм<sup>3</sup>. По полученным данным наиболее ак-

тивными биоаккумуляторами Zn, Pb и Cd являются коллекционные штаммы *R. ruber* [56, 170].

Проведено исследование способности одного из штаммов *Ps. aeruginosa* к биотрансформации соединений ртути, кадмия и олова, а также полихлорированных бифенилов и трибутилола [301]. Была показана возможность успешного удаления с помощью псевдомонаса Hg (до 70%), Cd (до 70%), Sn (до 95%) из культуральной жидкости. Кроме того, данный штамм оказался способен в аэробных условиях разлагать 14 токсичных полихлорированных бифенилов, что дает возможность высоко оценивать биотехнологический потенциал данной бактерии. Например, некоторые устойчивые к ТМ виды могут накапливать их путем удаления из системы. МО могут накапливать и металлы, которые совсем не участвуют в метаболизме. Например, *Escherichia coli* адсорбирует Cd до 90 мг/1 г сухой биомассы. Сравнение устойчивости разных видов бактерий к ТМ показывает, например, что *E. coli* в 20 раз более устойчива к Hg и может накапливать ее в пять раз больше, чем *Staphylococcus aureus* [56, 358].

Mn-устойчивые бактерии были использованы для очистки шахтных вод в США [245]. При повышенных концентрациях ТМ в среде популяции аноксигенных фототрофных пурпурных несерных бактерий способны расти и сорбировать ионы  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  [10, 44]. При выращивании *B. subtilis* в растворе хлористого золота на клеточных стенках бактерий образуются микрокристаллы чистого металлического золота. Кроме золота, *B. subtilis* может извлекать из раствора около 40 ТМ [240]. Восьминутный контакт денитрифицирующих бактерий с U приводит к снижению концентрации ТМ в водной среде с 25 до 0,5 мг/дм<sup>3</sup>. В случае биологической детоксикации ртутьсодержащих сточных вод используются бактерии р. *Pseudomonas*. Это геномодифицированные штаммы, в которые ввели плазмиды, определяющие синтез белка, способного связывать Hg из ее соединений – как органических, так и неорганических [56, 240].

К числу эффективных МО-биоремедиаторов относятся актинобактерии [396].

Получены данные для разработки оценки эффективности сорбционных технологий реабилитации загрязненных почв. Так, результаты лабораторных исследований биологической активности разных типов почв (чернозем типичный, каштановые и дерново-подзолистые почвы), загрязненных 100 ПДК ТМ, показали эффективность использования комбинаций природных сорбентов для снижения токсично-

стии улучшения биологических свойств почв, загрязненных ТМ. В работе дана оценка активности почвенного дыхания, качественного и количественного состава микробоценозов, токсичности и остаточного содержания ТМ в течение 30 суток. Выявлены закономерности изменения качественного и количественного состава МО разных типов почв. Например, отмечено некоторое увеличение общей численности бактерий и флуктуационные изменения микробной системы, затрагивающие интенсивность микробиологических процессов, на 7–14-е сутки ремедиации [218].

Биомасса практически всех видов МО, включая бактерии и грибы, способна сорбировать ТМ из раствора. Например, разработана технология извлечения Au из растворов ювелирного производства путем адсорбции на мицелии грибов. Существует способ извлечения ТМ из водной среды обработкой ее грибным мицелием, причем для этих целей может быть использована биомасса широкого набора грибов: пенициллов, триходерм, кладоспориумов и других. Результаты лабораторного эксперимента по адсорбции ртути на микробной биомассе и активном иле были проверены в производственных условиях очистных сооружений ацетальдегидного производства. Она осуществляется из стоков на ранних этапах очистки путем ее адсорбции на активном иле [35].

Еще более эффективно процесс осаждения металлов происходит в аппаратах с иммобилизованными сульфатредуцирующими микроорганизмами. Чаще иммобилизация осуществляется по принципу адсорбции на заполняющем аппарат пористом материале, например полиуретане, керамике, полихлорвиниле и других пленках, натянутых вдоль всего объема реактора [35].

Смесь *Candida lipolytica* и обезвоженного осадка сточных вод обладает способностью сорбировать Cr из водных растворов и гальванических загрязненных вод. Исходное значение рН, дозировки биосорбента и время контакта – важный параметр Cr – биосорбции [270].

Для извлечения Au из сточных вод ювелирной фабрики практикуют добавление суспензии дрожжей р. *Saccharomyces*, *Candida*, *Rodotorula* и бактерии р. *Escherichia*. Способ эффективный, поскольку позволяет извлекать из водных растворов высокодисперсное Au на 98–99% [36, 56].

Проведены исследования по изучению сорбции живым и мертвым илом ионов меди, свинца в зависимости от времени контакта биомассы активного ила и концентрации металлов. Результаты показали, что при небольшой биомассе, 1,45 мг/л, до 60% ТМ сорбирована

лось в течение одного часа. При увеличении биомассы до 2,7 г/л основная часть ТМ сорбировалась в течение 20 минут. Как вариант существенно повысить биосорбционную способность ила, ускорить процесс сорбции ТМ можно, используя гранулированный либо термически обработанный ил. Исследованные биосорбционные свойства сухого ила площадок Лисичанского НПЗ показали, что насыщение ионами меди мертвого ила происходило в первые три минуты, при этом сорбционная емкость составляла 1,94 мг  $\text{Cu}^{2+}$  на 1 г ила и была в восемь раз выше по сравнению с живым илом [35].

В процессе разработки биопрепаратов нефтеокисляющего действия исследуются различные культуры МО. Такие МО могут выделяться из загрязненных почв или «создаваться» в лабораторных условиях с применением методов генной инженерии [156].

Предполагается использование штамма *Alcaligenes faecalis* для биовосстановления почвы, поскольку он способен к разложению хлорпирифоса на 98,6% (100 мг/л) в жидкой среде в течение 18 дней и на 100% (100 мг/кг) в почве в течение 20 дней. А фотосинтезирующая бактерия *Rhodopseudomonas palustris* может производить деградацию органофосфорных инсектицидов почти до 70% [132].

В настоящее время в процессах биоремедиации широко используются МО, способные синтезировать поверхностно-активные вещества. Исследования показывают, что актиномицет *Str. chromogenes* s.g 0832 обладает флокулирующими свойствами и может успешно конкурировать с известными синтетическими флокулянтами в очистке сточных вод. Применение данного биофлокулянта позволит упростить технологию водоочистки и повысить ее экологическую безопасность [33].

Для очистки серой лесной почвы от НП использовали биопрепарат «Универсал», представляющий собой биомассу углеводородоокисляющих актинобактерий *Rhodococcus equi*. После обработки препаратом степень деградации поллютанта была максимальна и составляла 90% при минимальной стрессовой нагрузке 0,48 г/100 г почвы. При содержании 3,12 и 6,8 г/100 г почвы степень деградации нефтяных углеводородов составляла 66 и 77% соответственно [116, 117].

С помощью грибов белой гнили *Phanerochaete chrysosporium* проводят деградацию фосфор- и хлорорганических гербицидов и инсектицидов в почве [318]. А виды грибов *Aspergillus* и *Penicillium* были способны использовать пестицид монохлорофос в разных концентрациях от 100 до 600 ч/млн [265].

Перспективным объектом для разработки методов цианобактериальной очистки жидкостей от токсикантов различной природы может служить ЦБ *N. linckia* вследствие своей высокой сорбционной активности [226]. Учитывая, что культура ЦБ первоначально развивалась в загрязненной среде, реально предположить, что уровень биосорбции может быть существенно выше, если биомассу ЦБ, выращенную без добавления токсикантов, использовать в качестве фильтра, пропуская через нее загрязненную жидкость [56, 105].

Таким образом, поиск и выделение в чистую культуру микроорганизмов среди бактерий, микромицетов и водорослей, способных к активной деградации тех или иных поллютантов, – основа в разработке биоремедиационных мероприятий от поллютантов, таких как тяжелые металлы, пестициды и нефтепродукты.

Благодаря естественной стабильности проявляется самоочищение, которое заключается в нейтрализации и деструкции поллютантов в ходе естественных химических, физических, биологических и прочих процессов. Важную роль в процессе миграции поллютантов в почве играет их сорбция почвенным веществом [256].

Существует несколько подходов к решению проблемы деструкции нефтяных углеводородов с помощью МО. Первый подход биологической очистки почвы от НП опирается на применение различных способов стимуляции естественной микрофлоры в отношении нефтяных углеводородов. Так, для почв с застарелыми нефтяными загрязнениями или при их повторном попадании характерно присутствие аборигенных МО-нефтедеструкторов. В этом случае для активизации углеводородокисляющей способности аборигенной микрофлоры достаточно провести агротехнические мероприятия.

По сравнению с другими вредными веществами, загрязнение углеводородами оказывает воздействие на микробиоту: микрофлора реагирует на изменения ОС и способствует ее восстановлению. Среди естественных механизмов самоочищения почв от загрязнения нефтью и НП главная роль принадлежит МО. Практически все углеводороды, входящие в состав нефти, могут быть объектом микробиологического воздействия, претерпевая разнообразные пути превращения. Углеводороды в почве расщепляются в результате деятельности УОМ или могут превращать данные вещества в соединения, утилизируемые другими группами МО. В естественном состоянии в почвах содержание УОМ менее 1% микробной популяции, в нефтезагрязненных грунтах их доля часто достигает 10% [41].

В этом процессе участвуют и грибы, и бактерии, причем значение последних в сообществе МО-деструкторов наиболее значимо. Наиболее часто культура нефтеокисляющих МО содержит четыре группы бактерий: грамположительные коринеподобные бактерии (*Rhodococcus*, *Bravobacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*), грамположительные спорообразующие бактерии (*Bacillus*), грамотрицательные оксидазоположительные палочки (*Flavobacterium*, *Chromobacterium*) и грамотрицательные оксидазоотрицательные кокко-палочки (*Acinetobacter*) [156].

МО ризосферы растений способны к деградации самых разнообразных загрязнителей. Например, в ризосфере клевера, который также был использован для восстановления нефтезагрязненных почв в зоне южной тайги, была более высокая скорость деструкции нефти, причем численность биоты в ризосфере превышала в несколько раз и численность в зоне, удаленной у корней [235].

Изучение дерново-подзолистых, светло-каштановых почв и черноземов с различной степенью нефтяного загрязнения выявило прямое влияние концентраций нефти на численность различных групп МО почвы. Низкие концентрации нефти оказывают стимулирующий эффект на активность МО, а более высокие концентрации нефти ( $10 \text{ л/м}^2$ ) ингибируют жизнедеятельность почвенной биоты. В почвах с высокой активностью процессов гумификации (дерново-подзолистые почвы) доминантами выступают виды, участвующие на ранних этапах распада органического вещества. Это виды *B. cereus*, *B. virgulus*, *B. agglomeratus*. Более глубокая трансформация органического вещества протекает при участии *B. idosus*, *B. mesentericus*, *B. subtilis* [219].

Почвы Забайкалья характеризуются невысокой численностью МО. В видовом составе МО каштановой почвы содержатся наиболее активные УОМ природного происхождения: *Pseudomonas*, *Arthrobakter*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Mycobacterium*, а также представители актиномицетов, микромицетов и дрожжей [130].

Пропитывание НП почвенной массы приводит к активным изменениям в ее химическом составе, свойствах и структуре. Изменение окислительно-восстановительных условий в почвенном горизонте приводит к увеличению подвижности гумусовых компонентов почвы и ряда микроэлементов, что вызывает резкое нарушение в почвенном микробиоценозе. Комплекс МО в почве принимает неустойчивый характер, подавляется фотосинтетическая активность расти-

тельных организмов. Но, тем не менее, НП при длительном нахождении их в почвах в результате микробиологических и физико-химических процессов могут разлагаться на менее токсичные вещества [21].

В экстремальных условиях как деструкторы нефти более эффективны грибы. Мицелиальный рост позволяет грибам распространяться между локальными источниками компонентов питания, проникать в почвенно-нефтяные агломераты. Например, нефтяное загрязнение (1%) стимулирует развитие микромицетов и в торфяно-глеевой, и в серой лесной почвах [185].

Доказано, что в почве на восстановительные меры микромицеты отреагировали перегруппировкой видов и увеличением разнообразия. Однако активизация биологических процессов распространялась только в верхнем слое (0–5 см). Показатели биомассы грибного мицелия свидетельствовали о том, что присутствие нефтепродуктов способствует развитию микромицетов в почве. Так, после семилетнего самоочищения загрязненных нефтяными углеводородами участков численность грибных зачатков в торфяно-глеевой почве возрастала в 9–11 раз. Таким образом, данное исследование доказывает, что микромицеты необходимо включать в состав биопрепаратов для рекультивации нефтезагрязненных земель. Традиционно в данные препараты включают бактерии, способные к разложению нефтепродуктов [235]. Отмечено, что среди природных микромицетов (рр. *Asregillus*, *Penicillium*) есть штаммы, сочетающие в себе свойства биосорбентов и биодеструкторов нефти и НП [85].

В исследованиях, посвященных углеводородокисляющим микроорганизмам (УОМ), большинство авторов сосредоточивают свое внимание на аэробных хемотрофных бактериях и микроскопических грибах. Так, показано положительное влияние несерных пурпурных бактерий на процессы самоочищения земель от углеводородного загрязнения. Загрязнение нефтью вызывает изменения в составе водорослевых группировок, нарушая количественное соотношение между представителями разных систематических групп. Отмечается особая чувствительность желтозеленых и диатомовых водорослей. При слабом загрязнении (2,4 л/м) через два года наряду с развитием гетеротрофной микрофлоры наблюдали развитие цианобактерий. При сильном загрязнении нефтью (22 л/м) водоросли в почве не были обнаружены [117].

В настоящее время установлено, что УОМ расселяются повсюду, особенно много их там, где в почве имеются газообразные или жидкие углеводороды. Например, большую роль в уничтожении восходящего потока углеводородных газов над залежами нефти и газа играет группа бактерий, окисляющих метан и его гомологи, представленная в основном родами *Pseudomonas* и *Mycobacterium* [142]. Наиболее активно утилизируются углеводороды с прямой цепью, n-парафины с длиной цепи C12-C22. В зависимости от условий они разлагаются на 10–90% в течение 1–2 месяцев при первоначальном суммарном содержании нефтеуглеводородов 0,5–2%.

Другой подход микробиологической рекультивации нефтезагрязненных почв основывается на интродукции нефтеокисляющих МО на загрязненные нефтью участки почв. Этот подход, как правило, оправдан в тех ситуациях, когда естественные сообщества МО не в состоянии справиться с количеством НП, присутствующих в нефтезагрязненных экосистемах. При этом в практике применяются биопрепараты на основе как одного штамма-нефтедеструктора, так и искусственно созданных ассоциативных культур нефтеокисляющих бактерий. Наиболее эффективными являются биопрепараты, разработанные на основе МО, выделенных из нефтезагрязненных объектов, включающие различные физиологические и таксонометрические группы бактерий. Данный подход оправдан, так как внесение несвойственной для экосистемы микрофлоры в составе биопрепаратов подавляется именно аборигенными популяциями бактерий и микромицетов техногенных экосистем [71, 155, 156, 190, 219].

В настоящее время известно довольно большое количество биопрепаратов-нефтедеструкторов, содержащих различные ассоциации МО. Монобактериальные препараты характеризуются более узкой специфичностью по отношению к отдельным углеводородам. Применение консорциумов МО-нефтедеструкторов, являющихся естественными природными симбиотическими ассоциациями различных штаммов МО, позволяет полнее осуществить рекультивацию, ускоряя биологическое окисление загрязнений в десятки и даже сотни раз. Так, представляется перспективным использование консорциума МО *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 и *Ochrobactrum* sp. ИБ ДТ-5.3/2 в качестве основы биопрепарата для очистки почвы от загрязнения нефтью и ее производными [130].

Консорциум, выделенный из серой лесной почвы, загрязненной дизельным топливом, и состоящий из МО *Acinetobacter* sp. ИБ

ДТ-5.1/1 и *Ochrobactrum sp.* ИБ ДТ-5.3/2, обладает высокой окислительной активностью по отношению к нефтяным углеводородам различного строения, нефти и ее фракциям и хорошо зарекомендовал себя в модельных экспериментах по ремедиации замазученных грунтов с территории нефтеместорождений Жетыбайи Каламкас (Республика Казахстан) [131].

Согласно полученным данным, для интенсификации микробиологической деструкции нефти можно использовать экологически чистый мелиорант на основе торфа, обладающего хорошими сорбционными свойствами и обогащенного активной УОМ. При этом численность УОМ в нативном торфе может в пять раз превышать аналогичный показатель для почвы. После активации торфа путем внесения азотно-фосфорных удобрений количество разнообразной углеводородокисляющей микрофлоры возрастает приблизительно в 100 раз и составляет в среднем  $5 \cdot 10^{10}$  клеток/г в.с. торфа, что обеспечивает высокую степень деструкции нефти в короткие сроки [3].

При проведении углубленного анализа процессов биодеструкции углеводородов чернозема обыкновенного Азово-Кубанской низменности Краснодарского края для биоремедиации и утилизации нефтяных загрязнений были использованы препараты на основе *Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas putida* [4].

На основании выявленных особенностей функционирования естественных микробных сообществ загрязненных почв и интродуцированных нефтеокисляющих МО разработаны научные основы применения и совершенствования технологий микробной ремедиации нефтезагрязненных почв. Научно аргументирована и экспериментально доказана перспективность использования штаммов *Bacillus sp.* УН2/5 для очистки почв со свежим нефтяным загрязнением, которые не только ускоряют очистку в два раза в течение первого месяца ремедиации по сравнению с приемом стимуляции, но также повышают биологическую активность почвы и способствуют снижению ее токсичности. Установлено, что эффективность ремедиации при стимуляции естественного микробного сообщества почвы со свежим нефтяным загрязнением выше, чем при самоочищении, что выражается в увеличении степени деструкции нефтяных углеводородов и биологической активности почвы и снижении ее токсичности [177].

Здоровье почвы обусловлено наличием в ней группировок микробов, которые способны осуществлять важную функцию деградации чужеродных веществ. Однако привнесение пестицидов может приво-

дуть к локальным для данной территории перерождениям микробных сообществ [80]. Эффективный прием ремедиации почвы от пестицидов – инокуляция МО, которые могут их разрушать. Реальным является применение микробных препаратов для деградации пестицидов в очистных сооружениях и даже в аварийных ситуациях при большой концентрации токсикантов. Среди МО, наиболее активно осуществляющих деградацию поллютантов, – бактерии рр. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*. С помощью подобных бактерий возможно создание биопрепарата для ремедиации химически загрязненных почв [183].

Как известно, использование пестицидов всегда связано с их побочным действием на компоненты ОС. Образуются новые комплексы с низким уровнем видового разнообразия, в которых отсутствуют азотфиксирующие бактерии. Таким образом, токсичность химикатов может приводить к сдвигу в биологическом комплексе в направлении сокращения функционального разнообразия. Так, под действием артразина происходит обеднение видового состава водорослей, снижается частота их встречаемости. Лидирующее положение занимает пара видов МО, образуется качественно новое сообщество. Но через некоторое время количество фототрофов восстанавливается. Пестициды нового поколения менее токсичны и даже приводят к ускорению хода альгосукцессий в почве и увеличению группового разнообразия популяций фототрофных группировок [80].

Хроническое загрязнение почвы разными пестицидами в зоне полигона захоронения ядохимикатов стабилизирует развитие альго-цианобактериальных сообществ на определенном уровне численности фототрофов и их состава и характеризуется массовым развитием ЦБ [28]. Полученные в опыте результаты по переносу в почву, загрязненную пестицидами, подстилки с сапрофитами оказывает положительное влияние на сеянцы независимо от состава насаждения, причем наиболее эффективно действие МО, внесенных с подстилкой из соснового насаждения, которая, как известно, богата грибами. Более высокий выход сеянцев нормального фенотипа коррелирует с активностью микробиологического потенциала, что проявляется в активности каталазы [232]. Доказана естественная депонирующая способность почв для надежной защиты ОС от загрязнения фосфорорганическими токсичными химикатами и продуктами их деструкции [255, 256].

Выделенный из пахотной почвы паспортизированного поля консорциум бактерий, состоящий из штаммов-деструкторов фенола (шифр Фл1, Фл2, Фл3, Фл4 и Фл5), использовали для деградации фенола. Так, на шестые сутки воздействия поллютанта его концентрация снижалась до 15 мкг/л при начальной концентрации 50 мкг/л [106].

Комплекс бактерий *Ps. fluorescens* 38a, *Ps. chlororaphis* PCL1391, содержащих CAP-плазмид у штамма BS268 и нового штамма-деструктора олигомеров нейлона – *Brevibacterium* sp. BS3, выделенный из почвенных образцов и очистных сооружений химического предприятия «Щекин Азот», способен к деградации капролактама [95].

Для ремедиации почв от стойких хлорорганических соединений предлагается использование навоза или сидератов для интенсификации микробиологического очищения биотой данных токсических веществ [45]. Также для ускоренной деградации хлорорганических веществ в почву вносили крахмал, что приводило к интенсивному росту грибов и бактерий [80]. Возможно и самоочищение почв от данного типа химических соединений до расщепления ароматических колец почвенной биотой в определенных условиях и определенных почвах.

Таким образом, значительна и разнообразна роль МО в процессе сорбции и биodeградации различных поллютантов, которые выполняют важную функцию сохранения почвенного плодородия. На сегодня в научной литературе описаны различные механизмы биосорбции многих ТМ, деградации органических загрязняющих веществ под влиянием МО и специфичных для них условий и факторов. Нами в ходе исследований на конкретных примерах выявлены и описаны механизмы биосорбции и биodeградации поллютантов, которые связаны с рядом физиолого-биохимических особенностей МО, зависят от видового разнообразия, специфики действия. Отмечена их роль и значение на примере ЦБ, микромицетов и водорослей как эффективных биоремедиаторов очистки сточных вод, бытовых и промышленных отходов, в биовосстановлении почвы. Безусловно, поиск и выделение в чистую культуру МО, способных к активной деградации различных поллютантов, является актуальной задачей по разработке и внедрению биоремедиационных мероприятий в практику очистки трансформированных почв и водных объектов.

## ГЛАВА 4. МИКРООРГАНИЗМЫ И МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ В БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Антропогенная нагрузка на почву неизбежно приводит к ее физической, химической и биологической деградации, становится причиной утраты плодородия, накопления токсичных веществ в продуктах питания и кормах. Поэтому чрезвычайно важен поиск и реализация путей восстановления (ремедиации) исходных качеств почвы. В этом плане все бóльшую популярность завоевывают приемы биоремедиации, которые включают использование организмов различных систематических уровней и их консорциумов для проведения рекультивационных работ. Становление супрессивности почвы зависит как от освобождения ее от фитопатогенов и фитотоксинов микробного происхождения, так и от детоксикации поллютантов и ксенобиотиков техногенного и агрогенного происхождения [29, 56, 105, 125, 388].

При постоянном антропогенном воздействии на почву меняются или разрушаются микробоценозы, свойственные «здоровой» почве [29, 136, 254]. Под «здоровьем» почвы можно понимать способность почвенной биосистемы в заданных пространственных границах поддерживать продуктивность растений и животных, сохранять приемлемое качество воды и воздуха, а также обеспечивать здоровье людей, животных и растений [118]. Одним из наиболее эффективных методов очистки окружающей среды от техногенных загрязнений является биоремедиация. При биоремедиации постепенное восстановление исходных параметров почвенного плодородия может происходить спонтанно за счет растительно-микробной системы. Однако процессы эти порой очень медлительны, и требуются усилия по повышению скорости репарационных процессов, что является одной из первостепенных задач почвенной биотехнологии.

В сравнении с другими методами очистки окружающей среды от загрязнения биоремедиация *in situ* гораздо дешевле. По экспертным оценкам, средняя стоимость способов биоремедиации составляет менее 20% от стоимости химических методов. При рассеянном загрязнении альтернативы биоремедиации просто не имеется [31, 32]. В отличие от промышленной биотехнологии, где имеется возможность выдерживать все параметры технологического процесса, биоремедиация, как правило, осуществляется в открытой системе, т. е. в ОС. Разнообразие поллютантов, включая токсины биологического проис-

хождения, попадающих в ОС, диктует и разнообразие методов биоремедиации и применение широкого круга организмов-биоремедиаторов. В конечном итоге скорость и качество биоремедиационных процессов определяются тремя возможностями организмов или биосистем: 1) способностью к разрушению поллютантов до соединений менее токсичных или не токсичных совсем; 2) способностью извлекать поллютанты из ОС и тем или иным способом производить их детоксикацию и 3) способностью ингибировать деятельность организмов-токсинообразователей. Первая особенность биоремедиаторов связана с синтезом экзоферментов, чаще всего гидролитических или оксидо-редуктаз; вторая особенность определяется различными метаболическими механизмами, переводящими токсиканты в неактивное состояние; третья основана на механизме антагонистической репрессии [29, 78].

В системе биоремедиационных мероприятий опираются на следующие группы организмов, способных снижать токсичность загрязненных почв [29, 31, 32]:

- аборигенную микрофлору. При этом требуются дополнительные приемы, обеспечивающие более активное размножение автохтонных видов, разрушающих или адсорбирующих ксенобиотики;

- выделенные и отселектированные штаммы МО, обладающие деструктивной способностью в отношении загрязняющих веществ. В этом случае используют и отселектированную аборигенную микрофлору, и специализированные МО, выделенные из других загрязненных местообитаний, чуждые для данного места (прием получил название «биоаугментация»);

- скомбинированные консорциумы МО, члены которых аддитивно дополняют оздоровительные функции партнеров;

- высшие растения-фиторемедиаторы, способные аккумулировать загрязняющие вещества в своих органах, благодаря чему происходит удаление поллютантов непосредственно из почвы или воды с последующим удалением из экосистемы самих растений;

- ассоциативные растительно-ризомикробные комплексы, в которые микробы-детоксиканты вводятся путем инокуляции семян или иного посадочного материала.

Таким образом, накоплен сравнительно большой опыт биорекультивации техногенных территорий с использованием организмов различных систематических групп. Помимо этого проводятся стандартные исследования, в которых изучаются абиотические факторы,

влияющие на скорость процесса биодegradации и глубину очистки от загрязнителя (температура, рН, влажность, уровень аэрации, концентрация самих загрязняющих веществ, наличие минеральных и органических источников питания для организмов-деструкторов и т. д.) [29, 77].

Для эколого-токсикологической характеристики биоремедиационных мероприятий предлагаются критерии оценки безопасности и эффективности технологий биоремедиации почвы: 1. Выделенные штаммы-биодеструкторы изучают на безвредность для теплокровных тест-животных по наиболее строгим критериям, принятым в международной практике для МО-производителей лекарственных препаратов. 2. Перед биоремедиацией составляют (на основе данных химического анализа) карту участка, содержащую информацию о фактическом содержании загрязняющих веществ в почве и их распределении по почвенным горизонтам. 3. Для всесторонней оценки эффективности биоремедиации изучают интегральную токсичность почвы и ее биофункциональную активность. 4. Оценивают риск заболеваемости населения, проживающего в зоне биоремедиации [29, 97].

Стратегия использования микроорганизмов в охране ОС осуществляется по двум главным направлениям: экстенсивному и интенсивному. Экстенсивные методы основаны на стимулировании или ингибировании деятельности аборигенных МО, разрушающих ксенобиотики, и представляют собой самостоятельный раздел биотехнологии, оперирующий с естественными ассоциациями в местах их природного существования. Эти методы основаны на процессах, характеризующихся небольшими скоростями, но они могут быть применены для охраны от загрязнения огромных объемов почв и природных вод при небольших капитальных затратах. Интенсивные методы основаны на интродукции активных МО-деструкторов в загрязненную почву в виде суспензии свободных или иммобилизованных на специальных носителях клеток [29].

#### **4.1. Использование аборигенной микрофлоры в биоремедиации**

Это группа приемов, которая в настоящее время используется наиболее часто. На загрязненные территории для стимуляции аборигенных микробных популяций вносят различные вещества: окислители, косубстраты (мелассу, этанол, навоз, навозные стоки), источники азота и фосфора, эмульгаторы [29]. Для улучшения аэрации прово-

дится вспашка почвы. Применимость и эффективность использования различных технологий активации автохтонной микрофлоры зависит от «возраста» и характера загрязнения, от механического состава почвы, размера очищаемой территории и направления ее хозяйственного использования [63, 161]. Предложен также сорбционно-биологический метод, основанный на использовании природных сорбентов и агроприемов, создающих оптимальные условия для развития и жизнедеятельности собственной специфической почвенной биоты [39]. При этом сорбент играет роль своеобразного буфера, который поддерживает концентрацию химикатов в почвенном растворе на низком уровне токсичности, обеспечивая тем самым условия для детоксикации как растворенных, так и сорбированных ксенобиотиков.

Оригинальный прием активизации аборигенной микрофлоры, участвующей в деструкции нефти, заключается в периодическом (один раз в четыре месяца) внесении в загрязненную почву углеводородоокисляющих бактерий [204]. Другими авторами [178] для стимуляции аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры в почвах, имеющих разный срок и тип нефтяного загрязнения, предлагаются приемы, основанные на внесении минеральных удобрений, мелассы и поверхностно-активных веществ. Самая значительная убыль нефти (46% за девять месяцев культивирования) наблюдалась при внесении всего комплекса стимулирующих добавок. Снижение содержания нефти в почве на 98,2% за семь месяцев биоремедиационных работ было достигнуто при комплексном использовании аборигенной микрофлоры, стимуляцию развития которой проводили путем внесения азотно-фосфатных удобрений. Дальнейшая интенсификация процесса деструкции углеводородов осуществлялась путем интродукции в нефтезагрязненную почву предварительно выделенных из нее же нефтеокисляющих микроорганизмов, биомасса которых наращивалась в лабораторных условиях и в полевом резервуаре [29]. Среди биологических агентов, расщепляющих органические загрязнители, существенную роль отводят миксотрофным ЦБ [362], для которых доказано, что в природных условиях они имеют преимущество перед гетеротрофными бактериями и грибами в деградации органических загрязнителей.

## 4.2. Биоремедиация с использованием интродуцируемых активных штаммов микроорганизмов-деструкторов и микробных консорциумов

Обязательными условиями успеха интродукции являются: подробное исследование состояния экосистемы, в которую будут введены микроорганизмы-деструкторы; уровень концентрации загрязняющего вещества; деструктивная активность интродуцента. Прогноз успеха интродукции выделенного микроорганизма-деструктора составляется на основании проверки его стабилизации в модельной экосистеме и проявления деструктивных свойств на уровне микробной нагрузки при соответствующих концентрациях загрязняющего вещества. Данные прогноза должны сочетаться с показателями абсолютной экологической безопасности интермедиатов тех метаболических преобразований, которые свойственны данному МО [196]. Кроме того, значительные успехи биоремедиационных мероприятий зависят от способа закрепления микроорганизмов-деструкторов на различных носителях – природных для почвы (торф, сапропель, различные растительные остатки) и тонковолокнистых, мелкозернистых, образующих большую поверхность для закрепления – при очистке сточных вод [29].

Существуют сведения о возможности использования в процессе биоремедиации морских бактерий [279]. Оказалось, что выделенные из морских вод бактерии обладают свойствами, которые позволяют использовать их для детоксикации ТМ, углеводов и других опасных соединений и ксенобиотиков. Механизм действия этих бактерий основан на способности образовывать БП и продуцировать внеклеточные полимерные вещества. При этом морские бактерии могут использоваться для целей биоремедиации без каких-либо предварительных генетических манипуляций.

Высокая степень устойчивости некоторых МО к ТМ является одной из основ их использования в биоремедиации. В частности, на примере несимбиотического гриба *Trichoderma* sp. [291], выделенного из почвы, загрязненной отвалами шахты по добыче свинца, показано, что данный гриб способен улучшать рост растений за счет поглощения ТМ из почвы. Кроме того, инокуляция почвы штаммом *Trichoderma* sp. повышала доступность питательных веществ, рост саженцев сосны, содержание хлорофилла и белка, а также активность супероксиддисмутазы. Поэтому велика перспектива использования

данного штамма триходермы в программах лесовосстановления и очищения загрязнения свинцом почв.

При инокуляции свинецзагрязненной почвы с бывших стрельбищ сапротрофными грибами (*Aspergillus niger* и *Penicillium* sp.) была отмечена мобилизация свинца уже через пять суток на 12%, которую связывают с продуцированием грибами хелатирующих органических кислот (щавелевой и лимонной) и снижением pH [264].

Изучение состава микромицетов, выделенных с полигонов твердых бытовых отходов, показало, что данные грибы обладают повышенной устойчивостью к ТМ, концентрация которых в почве полигонов значительно превышает ПДК [66]. Поэтому предлагают доминирующие в почве полигона виды (*A. niger*, *P. palitans*, *T. viride*) использовать в процессах рекультивации почвы территорий полигона после его ликвидации.

В новую фитоочищающую систему удаления из почвы ТМ включены почвенные бактерии, выделенные из корневых клубеньков чечевицы, растущей на загрязненных ТМ почвах. Молекулярный анализ этих бактерий показал их большое разнообразие, включающее *Agrobacterium tumefaciens*, *Rahnella aquilis*, *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp. и широкий ряд устойчивости к ТМ. Посев этого набора почвенных бактерий в гидропонную культуру чечевицы в условиях свинцового стресса существенно увеличивал биомассу растений и снижал поглощение свинца чечевицей [302].

Комбинацией необходимых свойств для проведения биоремедиации, включая ростстимулирующий эффект и антагонистическую активность против фитопатогенов, обладают, в частности, бактерии рода *Pseudomonas* [32, 140, 388], актиномицеты [149, 249, 392] и различные виды ЦБ [87]. Биопрепараты, разработанные на основе штаммов этого рода, применяются как для защиты культурных растений от болезней, так и для ремедиации почв и водоемов, загрязненных нефтью и ТМ [29]. Из черноземов, содержащих различные дозы ТМТД, выделен *P. putida*, обладающий активным деструкционным потенциалом по отношению к данному пестициду [186]. Учитывая мировой ассортимент пестицидов и экономическую выгоду применения биологических методов восстановления загрязненных почв, данный вид рекомендуют как один из наиболее перспективных деструкторов пестицидов для практического применения. Для ремедиации почв, загрязненных другим пестицидом (ДДТ), был использован ва-

риант очистки с помощью гриба белой гнили и экстракта лакказы, полученной из этого гриба [283].

Экспериментально доказана возможность использования глифосатустойчивых изолятов бактерий р. *Pseudomonas*, выделенных из загрязненной фосфонатом N-фосфометилглицином почвы, в биотехнологических процессах биodeградации этого ксенобиотика в ОС [17].

Биовыщелачивание для очистки почв, загрязненных ТМ, с последующей постадийной экстракцией осуществляется с помощью автотрофных бактерий *Thiobacillus* spp., продуцирующих серную кислоту [304]. Наибольшее извлечение ТМ (около 90%) установлено для Ва, Си, Рb; для Cd, Со, Ni, Sr – 60–80% [29].

Есть фактические данные о роли МО в детоксикации конкретных ТМ. Так, установлено, что бактерии *Ps. fluorescens* и *Ps. putida*, стимулирующие рост и повышающие урожайность сельскохозяйственных культур, после инокуляции семян ячменя, выращиваемого в почве, загрязненной свинцом (в дозе 200 и 300 мг/кг), способствовали уменьшению содержания свинца в зеленой массе растений в 2–6 раз, в корнях – на 20% и устраняли его токсическое действие [145]. Предполагают, что устранение токсического действия свинца происходит вследствие образования стабильных комплексов этих элементов с сидерофорами, продуцируемыми псевдомонадами [242, 193].

Изучена возможность удаления высокотоксичного металла кадмия из сточных вод с помощью живой и неживой биомассы актиномицетов [305]. Было показано, что параметры, влияющие на эффективность процесса удаления Cd, – это время контакта, рН раствора, температура и концентрация биомассы бактерий и токсичного металла. Вслед за биосорбцией Cd был использован метод дисперсионно-воздушной флотации для отделения собранных суспендированных нагруженных металлом МО. При использовании оптимальных условий достигалось более чем 95%-ное удаление Cd из раствора [29]. В результате экспериментального и математического моделирования популяционной динамики ризосферных бактерий в условиях кадмиевого стресса была рекомендована к использованию в составе биопрепаратов для стимуляции роста растений в условиях загрязнения тяжелыми металлами бактерия *Klebsiella mobilis* 880, которая обладала наибольшей миграционно-иммобилизационной активностью, наибольшей выживаемостью при кадмиевом стрессе [176]. При удалении из растворов ТМ используют и такую бактерию, как *Arthrobacter vicosus* [333]. Популяция бактерий, помещенная на гранулированный

активированный уголь, способствовала удалению из загрязненного раствора 50–100% свинца и 30–100% железа. Для удаления Pb из синтетических сточных вод используется отработанная биомасса *Corynebacterium glutamicum*, которая накапливается в ходе промышленной ферментации лизина [273]. Когда Pb связывается с биомассой, pH раствора падает, указывая, что протоны в биомассе замещены на ионы Pb. По сравнению с другими сорбентами, такими как природный цеолит, активированный уголь и синтетические ионообменные смолы, протонированная биомасса коринебактерий признана вполне удовлетворительным биоматериалом для биоочистки загрязненных вод [29].

Интродукция микроорганизмов-деструкторов в активный ил II и III очередей биологических очистных сооружений г. Могилева успешно активизировала очистку производственных и ливневых стоков объемом 130 тыс. м<sup>3</sup>/сут. от ингредиентов производства лавсана – метанола, динила, этиленгликоля, параксилола, диметилового эфира терефталевой кислоты – до ПДК для очистных сооружений [5, 6, 29].

Высокую эффективность удаления Pb из водных растворов показывают дрожжи *Rhodotorula glutinis*, способные за 10 минут сорбировать 80% Pb [272]. Эффективность сорбции резко возрастала при увеличении концентрации биомассы до 2 г/л и далее сохранялась практически постоянной. Максимальная способность к сорбции Pb составляла 73,5 мг/г биомассы. Механизм удаления Pb с помощью дрожжей предусматривает прямое сорбционное взаимодействие с биомассой путем ионообмена или осаждения при высвобождении фосфата из биомассы [105]. Эффективными биосорбентами таких металлов, как Ag, Au, Cd, Co, Cr, Ni, U, Th, Zn, являются дрожжи родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*. Оценка сорбционной способности организмов базируется на классической изотерме сорбции, которую получают в ходе равновесных экспериментов и которая зависит от pH, свойств ионов металлов, концентрации биомассы, присутствия различных органических и неорганических ионов, температуры. Дрожжевая биомасса может быть получена с помощью использования многих промышленных процессов, что значительно уменьшает стоимость сорбента [29, 180]. Не только дрожжи, но и мицелиальные микромицеты способны удалять ТМ из водных сред. Данная способность к биосорбции Pb, Cd, Ni, Cr обнаружена у *Rhizopus arrhizus* и *Aspergillus niger* [269]. Ризопус максимально адсорбировал свинец (44,5%), аспергилл – кадмий (59,7%). Показана возможность адапта-

ции грибов к высоким концентрациям ТМ (100 мг/л) на стадии активного роста. В этом случае адсорбция свинца ризопусом составляет около 60%. Авторы предлагают адаптированные к высоким концентрациям ТМ штаммы грибов использовать для удаления ТМ из промышленных сточных вод.

Спорообразующие бактерии *Bacillus* sp. (биопрепарат «Бациспектин») успешно применяются для снижения фитотоксичности нефтезагрязненной серой лесной почвы. При этом снижение токсикоза почвы происходит не только в результате деградации нефти, но и путем подавления бациллами фитотоксических форм микромицетов, численность которых через полгода инкубации внесенных бактерий уменьшается на 12–20%, через год – на 20–25% [115]. Скорость самоочищения почвы от нефти повышается и в случае внесения различных видов рода *Azotobacter*. Доказано, что эти бактерии способны усваивать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии как в присутствии связанного азота, так и при азотфиксации [62, 63]. Кроме того, азотобактер активизирует размножение и аборигенных углеводородоксилирующих бактерий, входящих в состав препарата «Деворойл». Вследствие этого использование *Azotobacter* рекомендуют для повышения эффективности биоремедиации нефтезагрязненных почв. Наряду с бактериями в качестве основы биопрепаратов для ремедиации нефтезагрязненных почв применяются, хотя и реже, грибы, способные к утилизации ксенобиотиков. Так, при культивировании специально отобранных штаммов ксилосапротрофных базидиомицетов снижение содержания нефти в субстрате составило 37–39% (род *Trametes*) и 21–22% (род *Fomitopsis*) за три недели [107]. Грибы развивались не только на поверхности, но и по всему объему нефтезагрязненного субстрата [29].

Среди методов биомелиорации нефтезагрязненной почвы предлагается использование смешанной культуры микроводорослей [300]. Полагают, что это основано на способности микроводорослей выделять кислород в почве и тем самым повышать скорость абиотических процессов окисления, способствующих разложению поллютантов до безвредных продуктов.

Выделены штаммы родов *Candida*, *Bacillus* и *Pseudomonas*, способные к деструкции до 70% токсичных компонентов ракетного топлива, попадающих в почву, за 10–15 суток [154].

Микромицеты р. *Penicillium* способны утилизировать некоторые хлорорганические соединения (2-хлорпропан, 2-хлорпропен, 1,1-дих-

лорэтилен, хлороформ, 1,2-дихлорэтан, тетрахлорэтилен и др.), являющиеся стоками химических предприятий, которые могут использоваться, например, для предочистки сточных вод или в интенсификации процессов в биологических очистных сооружениях [36].

Большой проблемой загрязнения окружающей среды является накопление твердых бытовых отходов (ТБО), более половины из которых составляют различные природные и синтетические полимерные материалы, являющиеся механическими загрязнителями, так как большинство из них химически инертны. Для очистки ОС от подобных загрязнений перспективными являются методы, основанные на биоразрушающей активности различных МО. К числу наиболее активных деструкторов ТБО следует отнести плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Humicola* [169].

Большую опасность в настоящее время представляют СПАВ, применяемые более чем в 100 отраслях промышленности, а также являющиеся активной основой бытовых и промышленных моющих средств. Доказано, что способностью усваивать СПАВ в качестве источника углерода и энергии обладают бактериальные штаммы родов *Bacillus*, *Kocuria*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, которые можно рассматривать как перспективные объекты при разработке способов удаления СПАВ из промышленных отходов [211].

Проводятся работы по выявлению МО, активных в разложении пестицидов. Разработан экологический метод биоремедиации сельскохозяйственных почв от хлорпирифоса с помощью гриба *A. terreus* [351]. Данный инсектицид полностью деградировал в течение 24 часов инкубации в почве, обогащенной С, N, Р. Разложению такого пестицида, как пентахлорфенол, способствовал интродуцированный в почву штамм-деструктор *Streptomyces rochei* [99]. Этот пестицид под действием почвенной микрофлоры полимеризуется с образованием продуктов типа хлорированных диоксинов. Внесение клеток стрептококка способствует уменьшению количества продуктов его трансформации.

С деятельностью МО связывают и разложение фосфорорганических соединений (ФОС), которые в ОС циркулируют в результате применения в сельском хозяйстве в качестве пестицидов, а также к ФОС относится ряд отравляющих веществ (зарин, зоман, V-х) и продукты их разложения, которые могут попасть в почву в зоне действия объектов по хранению и уничтожению химического оружия. Доказано, что клетки различных МО могут разлагать ФОС и поэтому чрез-

вычайно важны в качестве катализаторов процессов биоремедиации почв. К числу деструкторов ФОС относятся бактерии р. *Pseudomonas*, гриб *A. niger* [203]. Актуальна проблема биоремедиации почв, загрязненных пестицидами. На примере гербицида прометрин показано, что его скорость разложения в почве обусловлена не количеством бактерий, а видом органического субстрата, дополнительно вносимого в почву. В частности, при внесении торфо-соломистого компоста или соломы формируется сообщество МО, активно гидролизующих целлюлозу и гемицеллюлозу. Эти полисахариды и продукты их гидролиза используются теми же МО при разложении прометрина [133]. В составе консорциума МО, разлагающих гербицид, были выделены *Sporocytophaga* sp., *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp. В контрольном варианте (без внесения органического субстрата) доля разложившегося прометрина не превышала 33%, а в опытных вариантах она составила 79–89%. Следовательно, для эффективной биоремедиации почв, загрязненных прометрином, необходимо вносить в них растительные остатки, богатые полисахаридами, или специализированные органические субстраты, содержащие консорциумы отобраных МО, утилизирующих целлюлозу.

Применение сертифицированных биопрепаратов показало, что под влиянием ассоциативных микроорганизмов, входящих в состав препарата «Микробиовит» и «Енисей», происходит полное или частичное снижение негативного действия солей цинка на рост и развитие проростков пшеницы. Ассоциативные микроорганизмы в концентрациях  $10^4$ – $10^5$  кл./мл снижали отрицательное действие солей цинка в интервалах от 2 до 32 ПДК [209].

В связи с уничтожением химического оружия на территории России в окружающей среде потенциально могут оказаться продукты детоксикации отравляющих веществ, в частности, такие как тиодигликоль (продукт гидролиза иприта) и метилфосфонофая кислота (продукт гидролиза зомана, зоман, V-х газов). Установлено, что сорго, овес и подсолнечник при выращивании на почвах, загрязненных данными соединениями, способны при определенных условиях аккумулировать до 25% этих веществ. При совместном действии растений и интродуцированных штаммов микроорганизмов-деструкторов, адаптированных к данным загрязнениям, снижение в почве продуктов детоксикации иприта и зомана в течение двух месяцев достигает 50–60% [29, 94]. Существенную роль в ослаблении токсичности поллютантов играют водные и почвенные микробные БП как в лабора-

торных испытаниях, так и в природной среде. При проведении экспериментов в бассейне р. Мор (Франция), загрязненной органикой и металлами, была обнаружена образовавшаяся на поверхности толстая и плотная биопленка, контаминированная металлами. Показано, что органический матрикс действует как барьер против вредоносного влияния металлов на диатомовое сообщество, из которого и состояла БП. Действие барьера осуществляется несколькими механизмами: градиентами, лимитирующими диффузию металлов во внутреннюю часть БП; усилением отмирания поверхностных клеток, образующих тонкий защитный слой; продуцированием большого количества комплексирующих металлы экзополисахаридов конститутивной микрофлорой БП [323]. Водные БП, образуемые бактерией *Nyphomonas* sp., за счет экзополисахаридов обладают способностью концентрировать токсичные ТМ в  $10-10^4$  раз больше, чем их находится в воде. Коэффициент биоконцентрирования изменяется в зависимости от вида металлов, солености, температуры и других условий ОС [386].

Для создания биопрепаратов, предназначенных для ремедиации почв, загрязненных полихлорированными бифенилами (ПХБ), перспективно использование определенных штаммов бактерий р. *Bacillus*. Коллекционные штаммы бацилл, выделенные из биогумуса и сероземных почв, загрязненных гексахлорциклогексаном, способны выживать в среде, где единственным источником питания и энергии являются ПХБ, и активно разрушают данные соединения [113].

На основании результатов изучения активности микроорганизмов-деструкторов хлорфенолов выявлена высокая способность представителей родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas* и *Bacillus* разрушать токсиканты, что в полной мере оправдывает их использование в очистке загрязненной почвы [4, 29].

Разработаны технологии восстановления городских почв, загрязненных полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ), на основе биопрепаратов, в состав которых включены аборигенные микроорганизмы-деструкторы ПАУ, носители для МО и сорбенты для загрязнителей [144]. Внесение в почву микробиологического препарата резко ускоряет процесс биodeградации ПАУ по отношению к контрольной необработанной загрязненной почве. За три месяца наблюдений в опытных вариантах разложилось от 65 до 95% ПАУ в зависимости от композиции препарата и концентрации ПАУ.

Метод биоаугментации, предполагающий внесение в загрязненную почву специализированных МО, способных улучшить фитосани-

тарное состояние почв, использовали при биоремедиации почв лесопитомников. Опытами было установлено, что наиболее активными микроорганизмами-интродуцентами для санации серых почв южно-таежной зоны Сибири являются микромицеты из р. *Trichoderma* и бактерии из р. *Pseudomonas* [29, 212].

К новым биоремедиационным агентам в последние годы стали относить и ЦБ. Образую тесные симбиотические взаимовыгодные связи с другими микробами, входящими в состав цианобактериальных сообществ, ЦБ в то же время могут быть антагонистами других микробов, в т. ч. и фитопатогенов [78].

С другой стороны, ЦБ реально использовать в биорекультивационных целях для очистки почв от химических поллютантов благодаря многочисленным механизмам детоксикации загрязнителей.

В биотехнологическом плане достоинством ЦБ является то, что при их культивировании, в отличие от гетеротрофных микробов-продуцентов, ЦБ, являясь фотоавтотрофами и азотфиксаторами, не требуют сред с органическими компонентами и не нуждаются в связанных соединениях азота. При этом выполняется одно из условий успешного биотехнологического производства – максимальная дешевизна питательных сред. ЦБ отвечают и второму важнейшему требованию микробной биотехнологии – высоким темпам размножения, что приводит к созданию максимальной продукции в предельно краткие сроки. Создание музейной коллекции ЦБ, с помощью которой возможен скрининг на выявление практически значимых штаммов, опирается на выделение ЦБ из природных сред [29, 105, 125].

Супрессивность почвы восстанавливается при инокуляции ЦБ в биологически и химически загрязненную почву [83]. Биологическое загрязнение почвы очень часто обусловлено массовым размножением фитопатогенных МО. Получены убедительные примеры антагонистической активности ЦБ против фитопатогенов и, в частности, против одних из наиболее вредоносных возбудителей болезней растений – грибов р. *Fusarium*. Например, было показано, что при введении культур ЦБ в почву, искусственно зараженную фитопатогенными грибами, а также в почву, ставшую фитотоксичной из-за длительного выращивания монокультур, неоднократно отмечался эффект повышения супрессивности почвы (табл. 68, 69).

Таблица 68

Снижение фитопатогенных свойств почвы под влиянием цианобактерий

Показатель	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i> +ЦБ	<i>Fusarium nivale</i>	<i>Fusarium nivale</i> +ЦБ
Численность спор грибов (млн/г почвы)	73,7±79	29,4±3,5	162,5±10,2	42,5±4,9
Численность клеток ЦБ (млн/г почвы)	–	150,8±19,8	–	218,7±25,8

Таблица 69

Снижение фитотоксичности почвы, вызванной *Fusarium oxysporum*, под влиянием *Nostoc paludosum*

Варианты	Длина мицелия, м/см <sup>2</sup>	Численность грибных спор, кол-во/см <sup>2</sup>
Фитотоксичная почва	23,3	5333447
Фитотоксичная почва + <i>Nostoc paludosum</i>	0,2	10714

Достоинства ЦБ как биофунгицида обусловлены их экологической ролью в биоценозах. В отличие от других МО, ЦБ обладают уникальной способностью мгновенно адаптироваться, активно размножаться и вегетировать при реинтродукции в почву. Их введение в почвенные микробиоценозы ведет, в частности, к ослаблению фузариозных патосистем и снижению количества пораженных растений (табл. 70).

Таблица 70

Снижение фитопатогенных свойств *Fusarium nivale* по отношению к озимой ржи под влиянием цианобактерий (4-суточные проростки)

Вариант	Количество пораженных растений, %	Длина корней, см	Высота проростков, см
Контроль ( <i>Fusarium nivale</i> )	95	0,88±0,11	0,21±0,05
<i>Nostoc paludosum</i>	37	5,74±1,59	1,24±0,02
<i>Nostoc linckia</i>	15	6,67±1,66	0,98±0,07
<i>Microchaeta tenera</i>	45	5,71±0,47	0,82±0,17

Серия полевых испытаний убедительно доказала результативность цианобактериальной обработки семян хвойных в условиях лесопитомников [83]. Искусственные древостои, к которым относятся и лесные питомники, изначально являются неустойчивыми экосистемами и вследствие этого разрушаются грибами биотрофного комплекса сильнее, чем естественные лесные сообщества. Фитопатоген-

ные грибы в лесопитомниках, поражающие живые саженцы, способны к быстрому накоплению биомассы, формированию высокой патогенности и агрессивности и, как следствие, к масштабному поражению сеянцев с формированием очагов распространения, усыхания и накопления патогенов. В течение нескольких лет в лесопитомниках Кировской области была отмечена массовая гибель сеянцев ели и сосны. Обработка однолетних сеянцев ели полужидкой (0,5%-ная агаризованная среда) культурой *N. paludosum* с титром 800 тыс. кл./мл увеличила годовой прирост сеянцев на 44%, количество здоровых растений возросло на 17,1%. При высаживании сеянцев на лесокультурные площади с цианобактериальной обработкой корневой системы их приживаемость увеличилась на 10%. В полевом опыте для сохранения сеянцев сосны использовали различные методики применения ЦБ: предварительное замачивание семян в чистых и смешанных культурах ЦБ; полив инокулятом после посева семян; обработку корневой системы двухлетних саженцев. Использование тройной смеси культур (*N. paludosum* + *N. linckia* + *Microchaete tenera*) было наиболее эффективным, вызывало увеличение прироста сеянцев на 45%, а саженцев – на 200% по сравнению с контролем [29, 83].

В городских экосистемах особенно чувствительны к болезням цветочные культуры, так как происходит наложение патогенного фона на химическое загрязнение урбаноземов. Красота городов во многом определяется степенью их озеленения и декоративного убранства. Постоянно растет площадь городских цветников не только в парках, скверах и дворах, но и непосредственно на улицах, возле торговых, учебных и офисных зданий. Пестицидная обработка семян и рассады в условиях города совершенно не желательна. Поэтому и в данном случае наиболее приемлемы биометоды защиты растений. Была проведена серия опытов с различными сортами астр, в ходе которых установили защитное действие чистых культур ЦБ и при выращивании рассады, и при высадке растений в открытый грунт [82]. При этом эффективность применения ЦБ *N. paludosum* была выше, чем таких сертифицированных препаратов, как «Гамаир», «Алирин Б», «Байкал-ЭМ1» [29].

Все описанные выше исследования проведены с альгологически чистыми культурами ЦБ, т. е. штаммы очищены от фототрофов (водорослей и других ЦБ), но в своих чехлах содержат бактерии-спутники. Их видовой состав и численность чрезвычайно разнообразны: аммонификаторы, олигонитрофилы, денитрификаторы, ак-

тиномицеты, меняются в зависимости от изменяющихся условий. Вероятно, клетки фототрофа «рекрутируют» в сообщество бактерии, помогающие ему выжить в конкретных условиях, ограничивая доступ других, то есть регулируют их состав. Партнеры циано-бактериальных комплексов взаимосвязаны так, что конечные продукты жизнедеятельности одного вида служат ресурсом для другого, а изъятие этих ресурсов – необходимое условие поддержания разницы концентраций субстрата и продукта. Разнообразие биохимических и физиологических реакций, осуществляемых ЦБ, приводит к неоднозначным последствиям для организмов, проживающих в совместных с ЦБ местообитаниях. Часть выделяемых соединений используется другими организмами для биосинтетических и энергетических нужд. Другие соединения могут выступать в качестве специфических химических раздражителей – биостимуляторов или биоцидов [29, 168].

Второй практически значимой способностью ЦБ является их способность к обезвреживанию токсикантов. Степень их стойкости и скорость деградации различны и во многом определяются наличием организмов, способных их усваивать, детоксифицировать, гидролизовать, обезвреживать. Механизмы трансформации ксенобиотиков различны у разных организмов и могут быть обусловлены морфологическими и физиологическими особенностями [125, 225]. В круге организмов-биоремедиаторов ЦБ выделяются многообразием путей обезвреживания поллютантов [29].

В первую очередь адаптация ЦБ к неблагоприятным внешним воздействиям обусловлена интенсивным выделением внеклеточной слизи, которая в общем балансе клетки существенна и составляет примерно 30% связываемого за сутки углерода или 40% чистой суточной продукции фотосинтеза [78]. При этом указанные объемы могут значительно колебаться как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения в зависимости от вида, физиологического состояния и функциональной активности клеток и условий ОС [125, 321].

Экссудация слизи приводит к проявлению у ЦБ сорбционных способностей, приводящих к внеклеточной детоксикации поллютантов [253, 328]. Полнота связывания поллютантов из раствора пропорциональна количеству выделяемой слизи. Связывание ТМ осуществляется как полисахаридами, так и липофильной фракцией клеток [29]. Существует феномен дистанционной детоксикации, при котором система защиты ЦБ от ТМ включает связывание металла не только кле-

точными структурами, слизистой оболочкой, но и экзополисахаридами в культуральной среде [23, 29, 105, 125].

Имеются исследования, доказывающие, что продукты жизнедеятельности ЦБ из очистных сооружений стимулируют рост и активность бактерий, утилизирующих фенол, дихлорацетат и дихлорфеноксиуксусную кислоту. Одновременное присутствие эксудатов ЦБ и указанных трех субстратов оказывало синергическое действие на бактерии, осуществляющие биодеградацию контаминатов [306].

Так, для очистки воды от фенолов, которые являются токсичными компонентами ряда промышленных предприятий, использовали ЦБ *Phormidium valderianum* [29, 348]. Представители р.р. *Chroococcus*, *Oscillatoria*, *Phormidium* обнаружены в массе в сточных водах предприятий, производящих пестициды, удобрения, красители для тканей, что делает эти ЦБ перспективными в отношении создания биосорбционных ловушек для токсикантов [328]. Разрабатываются технологии удаления ТМ из сточных вод с помощью экзополисахаридов ЦБ *Cyanospira capsulate* [29]. При этом установлено, что эффективность удаления металлов прямо связана с высоким соотношением поверхности к объему в системе, а биомасса ЦБ может многократно использоваться в циклах сорбции-десорбции металла без снижения эффективности его удаления [327].

Антистрессорная способность ЦБ была показана в опытах с образцами почв, отобранных вблизи объекта хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО) «Марадыковский» в Кировской области и содержащих повышенную концентрацию мышьяка [81]. Так, предпосевная обработка семян пшеницы культурой *N. paludosum* значительно повышала всхожесть растений (табл. 71) [29].

Таблица 71

Влияние цианобактериальной обработки на всхожесть семян пшеницы в образцах почвы, отобранных вблизи ОХУХО

Содержание As, мг/кг	Всхожесть, %	
	Без цианобактериальной обработки	С цианобактериальной обработкой
2,04	70,0	73,3
2,26	23,3	40,0
3,44	30,0	60,0

Защитным барьером, препятствующим проникновению поллютантов в растения, может быть предпосевная цианобактериальная

инокуляция семян, что было показано в серии опытов с пшеницей, горохом и горчицей при их выращивании на почве, загрязненной медью (табл. 72) [56].

Таблица 72

Влияние цианобактериальной обработки семян на урожай сельскохозяйственных культур при выращивании в почве, загрязненной медью

Вариант	Пшеница		Горох		Горчица	
	Урожай, г/м <sup>2</sup>	Прибавка к контролю, %	Урожай, г/м <sup>2</sup>	Прибавка к контролю, %	Урожай, г/м <sup>2</sup>	Прибавка к контролю, %
Контроль (без обработки)	45,3	0	117,1	0	141,7	0
Обработка <i>Nostoc linckia</i>	62,5	38,0	179,7	53,4	278,8	96,7
Обработка <i>Fischerella muscicola</i>	131,1	189,4	157,1	34,2	141,8	0

Микробные сообщества включают несколько видов или штаммов МО. В основном эти организмы объединяются за счет трофических связей типа метабиоза или протокооперации и успешно функционируют, пока в среде есть субстраты, поддерживающие их жизнедеятельность, включая высокотоксичные соединения. Эти сообщества могут иметь природное происхождение или быть искусственно сконструированы. Например, из зон антропогенного загрязнения выделена ассоциация штаммов *Pseudomonas stutzeri* и *Ps. putida*. Это ассоциация способна разрушать цианиды и тиоцианаты при их очень высокой концентрации в различных средах [65]. При совместном присутствии токсикантов ассоциация псевдомонад использует цианиды как источник азота, а тиоцианат – как источник серы [29].

Для биоремедиации почв, загрязненных нефтью и НП, отселектированы микробы-деструкторы, ставшие основой создания соответствующего биопрепарата. В их состав входят бактерии родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas* [158].

Для деструкции нефти и нефтяных углеводородов, применяется также ассоциация грибов, относящихся к р.р. *Acremonium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* [7, 8].

При использовании созданного на основе природного консорциума микроорганизмов-нефтедеструкторов *B. brevis* и *Arthrobacter*

sp. биопрепарата «Ленойл» уменьшалась фитотоксичность рекультивируемого нефтезагрязненного выщелоченного чернозема [116]. Ремедиационная способность микробного консорциума связана как со снижением содержания в почве остаточных углеводов, так и с перераспределением видов в комплексе почвенных микромицетов в сторону уменьшения удельного веса фитотоксических форм [29]. Было обнаружено, что гриб *Pleurotus ostreatus* в нефтезагрязненной почве может использовать ароматическую фракцию, тогда как другая почвенная микрофлора активно разрушает парафиново-нафтеневые углеводороды нефти. Интродукция гриба способствует деградации более широкого спектра углеводов нефти [181].

В Республике Беларусь запатентован способ очистки почвы от нефти с помощью препарата «Родобел-Т» [197]. Этот препарат представляет собой ассоциацию МО, активно утилизирующих углеводороды нефти. Содержит представителей гидрофильных и липофильных МО, что обеспечивает возможность его действия на границе водно-нефтяного слоя и в толще загрязнителя. МО, входящие в препарат, выделены из природы, непатогенны, нетоксичны. Одним из недостатков использования в биоремедиации выделенных и отселектированных культур гетеротрофных МО является то, что они обладают относительно узким спектром биогеохимических функций. В то же время природные сообщества имеют более широкий набор этих функций, так как включают в себя представителей нескольких трофических уровней, в том числе и фотосинтетиков: ЦБ и эукариотных водорослей [29]. Существование многовидовых микробных сообществ в виде биопленок имеет ряд экологических преимуществ. БП проявляют более высокую адаптивную устойчивость в ответ на любые стрессовые воздействия в сравнении с «рассеянными» популяциями. В случае БП затруднено проникновение в глубинные слои токсических веществ. Поэтому удаленные от поверхности клетки успевают перейти в устойчиво-адаптационное состояние и противостоять действию токсических агентов [364]. При использовании подобных многовидовых сообществ для биоремедиации задача заключается в следующем: 1) отыскать и селекционировать микробные сообщества, способные как выдержать токсичность среды, так и интенсивно деструктурировать загрязнения; 2) реализовать биопроцесс в лабораторном масштабе для демонстрации производительности и масштабности; 3) разработать технологическую схему для промышленного процесса и соз-

дать сопутствующие технологии, обеспечивающие накопление активной биомассы, запуск процесса и т. д. [89]

Перспективным направлением совершенствования процессов биоремедиации водных и почвенных экосистем является использование альго-цианобактериальных сообществ. Особую устойчивость к загрязняющим веществам проявляют цианобактериальные ассоциации [78]. Они способны адаптироваться к нефти и НП, ТМ, продуктам уничтожения химического оружия, поддерживать окислительный уровень экосистем за счет выделения кислорода, увеличивать численность гетеротрофных спутников в ассоциациях [116, 163, 210, 211, 243]. Установлено, что консорциум, образуемый матообразующей ЦБ *Microcoleus chthonoplastes* и бактериями внутри ее чехла, способен расти в присутствии неочищенной нефти и разлагать ее компоненты. Большинство симбионтов в биопленке относятся к альфа, бета и гамма подклассам *Proteobacteria*, а также группе *Cytophaga/Flavobacterium/Bacteroides*. Отмечено присутствие азотфиксаторов, близких к *Rhizobium* и *Agrobacterium*. Это означает, что, по крайней мере, некоторые бактерии консорциума осуществляют азотфиксацию и разложение углеводов в чехле ЦБ, в то время как сама ЦБ снабжает их «жилем» и продуктами фотосинтеза – кислородом и органическим веществом [339]. Например, при внесении в загрязненную почву наращенной биомассы природных БП с доминированием ЦБ р. *Oscillatoria* эффективность очистки почвы от НП за 30–90 дней доходила до 100% в зависимости от концентрации НП. Активизация деятельности сообщества и интенсификация процессов деструкции загрязнителя зависела не от внесенной биомассы, а от числа внесенных отрезков осцилляториевых тяжей, так как из любого отрезка образуется одна зона зарастания, распространение которой не зависит от изначальной биомассы [243]. Показано также, что цианобактериальные БП с доминированием *Phormidium tenuissimum*, *Synechocystis minuscula*, *Synechococcus elongates*, выделенные из техногенных экосистем, при внесении в комплексе с минеральными удобрениями в нефтезагрязненные почвы активизируют процессы деградации нефти [55]. Во многом деградационная способность ЦБ по отношению к нефти объясняется тем, что в колониальной слизи ЦБ создаются благоприятные условия для развития других МО. Например, обнаружено, что даже при концентрации нефти в 5% в БП *N. commune* резко возрастает количество углеводородокисляющих бактерий, способных

использовать в своем метаболизме компоненты нефти [29, 105, 116, 125].

В опытах с рядом сельскохозяйственных культур установлено, что природные пленки *N. commune* смягчали токсическое действие свинца (табл. 73) и метилфосфоновой кислоты (МФК) при выращивании пелюшки и горчицы в загрязненной среде [29, 163].

Таблица 73

Защитное действие биопленок *Nostoc commune* при проращивании семян в условиях свинцового стресса

Вариант	Всхожесть, %		
	Пшеница	Пелюшка	Горчица
Контроль	90,0	86,7	65,0
<i>N. commune</i>	90,7	90,0	51,0
Pb <sup>2+</sup>	78,7	43,3	2,0
<i>N.commune</i> + Pb <sup>2+</sup>	87,3	77,3	4,0

#### 4.3. Биоремедиационный потенциал актиномицетов в ассоциациях с растениями

Актиномицеты – мицелиальные прокариоты – играют ключевую роль в поддержании почвой гомеостаза [356]. Благодаря способности продуцировать гидролитические ферменты (протеазы, целлюлазы, лигноцеллюлазы, ксиланазы и хитиназы) актиномицеты участвуют в утилизации разнообразных растительных полимеров и минерализации мономеров, создавая для растений благоприятные условия существования в почвах и водоемах. Кроме того, почвенные актиномицеты, способные колонизировать корни растений, могут оказывать на него непосредственное воздействие, реализуя ряд потенциальных путей и механизмов, связанных с биосинтезом антибиотиков, фунгицидов, сидерофоров, сигнальных молекул, модуляторов иммунного ответа, регуляторов роста растений и других соединений вторичного метаболизма [369]. Взаимодействие между организмами, не обеспечивающее высокоспециализированных, облигатных связей между партнерами, но оказывающими положительное действие друг на друга, в современной трактовке принято определять как ассоциативные системы, или ассоциации [37].

Среди важнейших аспектов ассоциативного взаимодействия актиномицетов с растениями могут быть названы такие, как роль акти-

номицетов в регуляции численности и состава его микрофлоры (контроль фитопатогенов) и повышение способности растений выдерживать разнообразные абиотические стрессы, в числе которых засуха, засоление, загрязнение почв ТМ и другими ксенобиотиками.

Самую большую группу биоактивных вторичных метаболитов актиномицетов составляют антибиотики с антибактериальной, противогрибковой, антипротозойной и противовирусной активностью. Продуцируемые ими антибиотики могут проявлять активность в природных условиях и иметь значение в судьбе других МО в прикорневой зоне растений. При развитии в почве актиномицеты как мицелиальные организмы, подобно грибам, располагают рядом преимуществ: проникновение через поверхность раздела фаз, колонизация нового пространства в условиях, делающих бесполезной активную подвижность клеток, транспорт питательных веществ на расстояние. Сходство механизмов адаптации грибов и актиномицетов к условиям существования в почве позволяет предположить достаточно высокую степень перекрывания экологических ниш их отдельных представителей в природных местообитаниях, что, согласно закону конкурентного исключения Гаузе, ведет к элиминации одного из двух видов, занимающих сходные экологические позиции. Согласно существующим представлениям, способность актиномицетов образовывать антибиотики также основана на конкурентных взаимоотношениях микроорганизмов в естественных условиях их обитания.

Характерный для середины прошлого века оптимизм в оценке использования антибиотиков актиномицетов в растениеводстве сменился позднее пессимизмом по соображениям экономического и технического характера. Полученные к настоящему времени новые данные и переосмысление некоторых старых позволяют взглянуть на эту проблему с новых позиций: в какой мере сами растения могут противостоять почвенной инфекции, культивируя на корнях актиномицетную микрофлору? Известно, что метаболиты корневой системы растений имеют основополагающее значение в формировании микробных комплексов ризосферы [217]. Но в литературе сведения о влиянии генотипа растений на заселение ризосферы мицелиальными прокариотами встречаются лишь единично [246].

Считалось, что видовой спектр актиномицетов в ризосфере определяет преимущественно почва, а обилие представленных видов чаще зависит от растения [109]. В наших исследованиях фактор генотипа растения (сорт) определял варьирование численности актиноми-

цетов в ризосфере ячменя почти в равной степени с фактором среды (кислотности почвы). Суммарные вклады этих факторов в определение численности актиномицетов измеряли с использованием метода дисперсионного анализа (табл. 74).

Таблица 74

Вклады различных факторов в определение численности актиномицетов в ризосфере ячменя на дерново-подзолистой почве

Род	Вклад факторов в общее варьирование численности, %			
	Среда	Генотип	Среда×генотип	Неконтролируемые факторы
Streptomyces	35,4	29,5	32,1	3,0
Micromonospora	38,7	29,9	28,4	3,0
Редкие роды	40,0	42,0	10,5	7,5

*Примечание.* Общее варьирование показателей численности представителей каждого рода, условно принимаемое за 100%, путем 2-факторного анализа разложено на четыре составляющие. Они соответствуют действиям среды и генотипа растения, их специфическому взаимодействию (среда×генотип), а также влиянию неконтролируемых факторов (случайное варьирование или ошибка опыта).

Так, численность представителей различных родов актиномицетов в ризосфере ячменя на 35,4–40,0% определялась характером почвы, на которой выращивались растения, и на 29,5–42,0% – генотипом растения-хозяина. При этом вклад генотипического фактора в варьирование численности редких родов актиномицетов – 42% – был выше, чем его вклад в варьирование численности стрептомицетов и микромоноспор – 29,5–29,9%. Как статистическое значимое ( $P > 0,99$ ) оценивалось также взаимодействие факторов среда×генотип.

Различную способность растений взаимодействовать с мицелиальными прокариотами целесообразно учитывать при селекции новых сортов на устойчивость к почвенным инфекциям. Создание сортов с повышенной способностью концентрировать на корнях актиномицеты с антифунгальными свойствами, очевидно, может стать одним из перспективных путей управления численностью патогенов в ризосфере растений, используемых для биоремедиации почв.

Особая роль в защите растений от фитопатогенов отводится стрептомицетам, поскольку они не только продуцируют широкий спектр антибиотических веществ, но и наиболее вездесущи, активно колонизируя покровы и внутренние ткани растений. При сравнительном изучении приживаемости представителей трех типичных для ризосферы родов актиномицетов в ризосфере озимой ржи было установлено, уже на вторые сутки совместного культивирования числен-

ность *Streptomyces globisporus* 1-К-4 возросла в ризосфере более чем на два порядка – от  $10^6$  до  $2,14 \cdot 10^8$  КОЕ/г, тогда как численность актиномицетов родов *Micromonospora* sp. М-1к и *Streptosporangium* sp. Stm-Ф достигла значений  $3,6 \cdot 10^5$  и  $10^6$  КОЕ/г соответственно только на 30-е сутки после инокуляции (рис. 49).

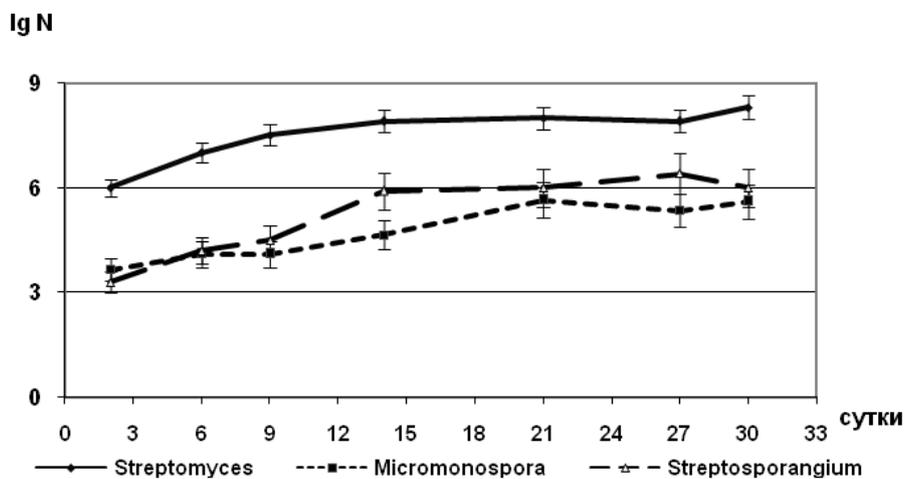


Рис. 49. Динамика численности (N, КОЕ/г) представителей различных родов актиномицетов в ризосфере озимой ржи Крона

Между показателями плотности заселения корней стрептомицетами и высоты растений озимой ржи выявлена тесная корреляция ( $r = 0,79-0,83$  при  $P \geq 0,95$ ) [149]. Стимулирующее воздействие природных изолятов на линейный рост растений может быть связано со способностью актиномицетов продуцировать вещества гормональной природы.

Различные виды стрептомицетов или синтезированные ими метаболиты используются для биологического контроля фузариозных заболеваний многих хозяйственно важных растений, включая банан, хлопчатник, гвоздику, спаржу, фасоль, томаты, зерновые и хвойные культуры [290]. Значительное количество работ посвящено роли стрептомицетов в подавлении роста и ограничении численности также таких фитопатогенов, как *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora capsici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*, *Pythium ultimum*, *Rhizopus stolonifer*, *Stemphylium lycopersici* и многие другие [275, 346, 390].

Для получения сведений о влиянии ризосферной актинобиоты на микромицеты как возможном регуляторном механизме их численности в этом микролокусе нами было проанализировано 176 попарных взаимодействий актиномицетных изолятов с фитопатогенными грибами рода *Fusarium* (табл. 75). Полученные данные свидетельствуют о широком распространении в ризосферных популяциях зерно-

вых культур актиномицетов, обладающих антагонистическими свойствами в отношении фузариумов: в изученной выборке из 22 изолятов лишь два были малоактивны в отношении всех тест-культур. Это штаммы 11 гр и 2 m, отнесенные к представителям родов *Streptovercillium* и *Micromonospora* соответственно.

Таблица 75

Антифунгальные свойства актиномицетов из ризосферы ячменя

Изоляты	Тест-культуры							
	1	2	3	4	5	6	7	8
11 Sp	+	0	0	+	0	0	+	0
4 Мр	+	0	0	0	0	0	0	0
14 m	+	0	+	+	+	++	0	+
2 m	+	0	0	0	0	0	0	+
16 op	0	0	++	+	++	++	++	++
1	0	0	+	+	++	++	++	++
2	0	0	+	+	+	+	++	+
3	0	0	+	+	+	+	+	+
3-2	+	0	+	0	++	+	++	++
3-3	0	0	++	++	++	+	+	++
4 g	+	+	+	+	0	+	++	++
8	+	0	++	+	+	+	+	+
10 гр	+	+	++	0	++	+	+	++
11 гр	0	0	0	0	0	0	0	0
13	+	0	0	+	++	0	+	0
14 гр	+	+	++	+	+	++	++	++
14 b	++	++	++	++	++	++	++	++
15	+	+	+	+	+	0	+	+
15 op	++	++	++	++	++	++	++	++
16	+	+	0	++	+	+	+	+
16-1	+	0	++	+	+	0	++	0
4	+	+	0	+	+	0	+	+

Примечание. 1 – *F. sporotrichiella* А-60180-з, 2 – *F. sporotrichiella* К-8999-з, 3 – *F. oxysporum* Ф-499-к, 4 – *F. sporotrichiella* А-60120-з, 5 – *F. oxysporum* В-299-к, 6 – *F. sporotrichiella* КК 794-27, 7 – *F. sporotrichiella* К-8999-к, 8 – *F. oxysporum* С-099-к. Активность: «0» – отсутствие подавления роста, «+» – подавление роста тест-объекта на расстоянии до 5 мм, «++» – 15–20 мм.

Все изоляты стрептомицетов в разной степени обладали антифунгальным действием, ингибируя в наших экспериментах рост тест-культур. Изоляты редких родов актиномицетов (11sp, 4Мр, 14m, 16op) характеризовались более низкой антифунгальной активностью,

чем изоляты стрептомицетов. В большинстве (42%) случаев изоляты актиномицетов оказывали на тест-культуры фузариумов фунгистатическое действие (пассивный антагонизм). В 26% случаев отмечено выраженное фунгицидное действие (активный антагонизм) мицелиальных прокариот. Наиболее широким спектром фунгицидного действия обладали стрептомицеты *S. diastatochromogenes* 15or и *S. endus* 14b. Они подавляли рост всех тест-культур *F. sporotrichiella* и *F. oxysporum*. Остальные культуры актиномицетов, действуя на микромицеты в основном фунгистатически, все же проявляли в отношении 2–4 тест-культур фузариумов фунгицидное действие.

Исследования метаболических взаимодействий выделенных из ризосферы мицелиальных МО показали, что метаболиты, продуцируемые актиномицетами, существенно влияют на развитие фитопатогенных грибов, ограничивая или подавляя их рост не только в лабораторных условиях, но и в вегетационных, а также полевых экспериментах. Так, при анализе динамики численности интродуцированных в гнотобиотическую систему МО было показано, что стрептомицетный штамм *S. hygrosopicus* A-4, несмотря на более низкие в сравнении с грибом темпы роста, способен увеличивать свою численность в прикорневой зоне до  $10^7$  КОЕ/г и ограничивать при этом рост фитопатогенного гриба *F. avenaceum*, снижать заболеваемость проростков озимой ржи и клевера лугового на искусственном инфекционном фоне. Действие актиномицета на фитопатоген было связано с продукцией им антифунгально активных метаболитов (антибиотиков, хитинолитических ферментов либо других соединений), предотвращающих заражение и гибель растений. Одновременно с антифунгальным действием актиномицет оказал стимулирующее влияние на корневой рост проростков, смещая эндогенный баланс фитогормонов в сторону ауксинов. Была показана способность *S. hygrosopicus* A-4 в чистой культуре к синтезу веществ индольного ряда в количестве 11 мкг/мл среды [363]. При этом важно, что антифунгальные метаболиты и регулятор роста актиномицет образовывал непосредственно в ризосфере растений, поскольку инокулят представлял собой споровую суспензию и не содержал каких-либо биологически активных веществ.

Оценка эффекта от применения *S. hygrosopicus* A4 в посевах голозерного овса сорта Вятский и его сравнение с другими биопрепаратами и химическим фунгицидом показали, что препарат A4, изготовленный на основе местного изолята *S. hygrosopicus*, по биологической эффективности в отношении корневых гнилей несущественно

отличался от биопрепарата сравнения Эмистим и химического протравителя Дивиденд Стар, но превосходил их в защите голозерного овса от стеблевой ржавчины и фузариоза метелки (рис. 50).

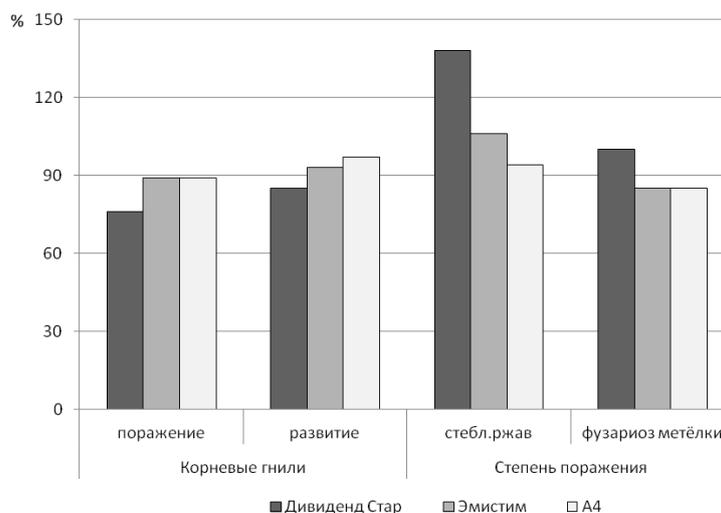


Рис. 50. Влияние совместной обработки семян и посевов различными препаратами защиты растений на поражение болезнями голозерного овса Кировский, % к контролю

В отличие от химического протравителя, который в опыте снижал по сравнению с контролем структурные показатели продуктивности растений, применение биопрепаратов способствовало повышению массы зерна с растения и массы 1000 зерен (рис. 51).

Положительное воздействие стрептомицетного штамма *S. higrscopicus* А4 на показатели продуктивности голозерного овса было соизмеримо также с воздействием биопрепарата Циркон и хелатного микроудобрения Силиплант [248].

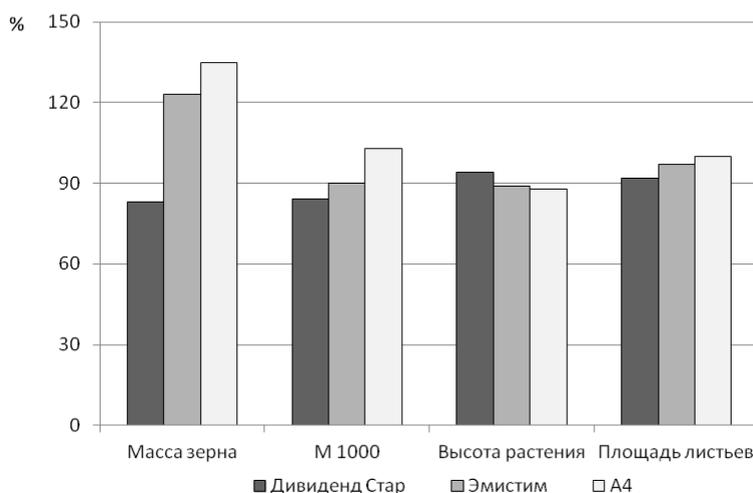


Рис. 51. Влияние обработки семян и посевов различными препаратами защиты растений на элементы продуктивности голозерного овса Кировский, % к контролю

В полевом опыте на дерново-подзолистой почве с использованием биопрепаратов Псевдобактерин-2 и *S. hygroscopicus* А4 для предпосевной обработки семян яровой мягкой пшеницы изучали динамику численности микроскопических грибов в прикорневой зоне растений сортов Свеча и Баженка. Сравнительный анализ последствий влияния биопрепаратов на ризосферный комплекс микромицетов пшеницы позволил установить, что в начале вегетации наиболее значимые изменения в его количественном и качественном составе были вызваны препаратом Псевдобактерин-2, а на более поздних стадиях – препаратом, изготовленным на основе штамма *S. hygroscopicus* А4. Так, к концу вегетации в ризосферном комплексе пшеницы сорта Свечи под воздействием *S. hygroscopicus* А4 произошло снижение в два раза численности пропагул, на 26% разнообразия микромицетов, на 50% частоты встречаемости и на 20% относительного обилия представителей рода *Fusarium* [250].

Если допустить, что снижение численности и сокращение разнообразия ризосферных комплексов микромицетов совпадают с максимумами популяционной плотности и метаболической активности интродуцированных микробов-антагонистов, полученные данные вполне отвечают представлению об актиномицетах как организмах, реализующих в условиях ризосферы К-стратегию развития [160]. К-Стратегам присущи низкие скорости роста и затраты на поддержание роста, они приспособлены не к быстрому размножению, а к сохранению равновесного уровня в течение продолжительного времени [52, 262], вследствие чего наиболее благоприятны для их развития поздние стадии микробной сукцессии, связанные с концом вегетационного периода. В связи с этим использовать *S. hygroscopicus* А4 в качестве биопрепарата целесообразно для регуляции численности фитопатогенов на завершающем этапе микробной сукцессии, связанной с концом вегетационного периода.

Наряду с регуляцией численности и состава микробных сообществ фитосферы посредством антибиозиса противостояние инфекциям может быть обусловлено активностью актиномицетов, связанной с продукцией хитиназ, гиперпаразитизмом, индукцией неспецифической или системной устойчивости самих растений. Так, иммунизирующее влияние на сеянцы норвежской сосны при заражении гетеробазидиальной гнилью оказала обработка культурой *Streptomyces* sp. GB 4-2. Отмечено под воздействием этого штамма также повышение

невосприимчивости *Arabidopsis thaliana* к фитопатогену *Alternaria brassicicola* [369].

Прямые эффекты актиномицетов на рост растений наиболее часто связаны с продукцией фитогормонов – ауксинов, гиббереллинов и цитокининов. В литературе сообщается о находках активных продуцентов ауксинов среди эндофитных актиномицетов как дикорастущих растений [325, 365], так и сельскохозяйственных культур [395].

В нашей работе показана способность эндофитных актиномицетов и коринформных бактерий, изолированных из корневых тканей озимой ржи, к образованию ауксинов в жидкой среде. Изоляты коринформных бактерий продуцировали в среду индолил-3-уксусную кислоту (ИУК). Выявлена зависимость образования ИУК актинобактериями от состава и кислотности питательной среды, концентрации в ней триптофана, условий аэрации. Проведена оценка биологической активности бактериальной ИУК. Обработка семян озимой ржи ауксинпродуцирующими актинобактериями способствовала повышению всхожести и более интенсивному росту проростков *in vitro* [150].

Полагают, что эндофитные актинобактерии повышают способность растений выдерживать экологические стрессы. Так, выделенные из сельскохозяйственных растений засушливых районов Индии (Раджастан) штаммы *S. coelicolor* DE07, *S. olivaceus* DE10 и *S. geysiriensis* DE27, способные к биосинтезу ИУК, при инокуляции пшеницы не только стимулировали рост проростков, но и способствовали их адаптации к пониженному (от  $-0,05$  до  $-0,73$  МПа) водному потенциалу [392]. В результате инокуляции семян и почвы культурой *Streptomyces* sp. – изолята из ризосферы пшеницы, выращенной на засоленной почве в западном регионе Саудовской Аравии, – существенно улучшались морфометрические и биохимические показатели растений, выращенных в условиях модельного засоления (NaCl). Рекомендуют в связи с этим к использованию в качестве биоудобрения на засоленных почвах штамм также характеризовался способностью продуцировать в среду ИУК в присутствии 2 мг/мл L-триптофана [260].

Некоторые представители рода *Streptomyces*, помимо прямого влияния на растения, способны оказывать косвенное влияние в ризосфере на взаимодействие между симбиотическими партнерами таких важнейших симбиозов, как бобово-ризобияльный и микориза травянистых и древесных растений. Наблюдали отрицательные и положительные эффекты, которые простираются от полного блокирования стрептомицетами роста микробного партнера до содействия образо-

ванию и функционированию симбиотических тканей [344, 374]. Хелперная роль стрептомицетов в формировании франкиальных симбиозов была отмечена и в более ранних работах [109]. К числу положительных эффектов, обусловленных присутствием в том или ином микробно-растительном симбиозе третьего – стрептомицетного – компонента, относят стимуляцию образования клубеньков бобовыми и актиноризными растениями, повышение активности азотфиксации в клубеньках, стимуляцию мицелиального роста и прорастания спор грибов-микоризообразователей, увеличение активности кислой и щелочной фосфатаз в корнях и усвоение фосфора.

Продуцируемые актиномицетами вторичные метаболиты, по данным современной литературы, способствуют экологической адаптации как самих мицелиальных прокариот, так и связанных с ними растений. Развитие этих представлений будет играть важную роль для практического использования актиномицетов как в экологически безопасных технологиях аграрного производства, так и технологиях биоремедиации загрязненных почв.

Многие обитающие в ризосфере растений актиномицеты проявляют в лабораторных условиях свойства, типичные для PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) бактерий, т. е. способны фиксировать атмосферный азот, минерализовать труднодоступные растениям соединения фосфора, продуцировать сидерофоры, увеличивая тем самым потребление растением дефицитного в условиях нейтрально-щелочной реакции среды железа. В то же время актиномицеты, выделяемые из техногенно загрязненных почв, в частности тяжелыми металлами, способны развивать специальные стратегии, позволяющие им успешно справляться с «металлическим прессингом». Системы устойчивости к ионам металлов появились у актинобактерий задолго до техногенного загрязнения окружающей среды, поскольку известны случаи выделения штаммов, устойчивых к ионам ТМ, из незагрязненных природных источников [296]. Такие случаи объясняются индукцией металлами «спящих» генов устойчивости. У актиномицетов одной из распространенных стратегий защиты является адсорбция металлов компонентами клеточной стенки [342]. В основе экологических различий в устойчивости этой группы бактерий лежит огромное структурное разнообразие тейхоевых кислот и гликополимеров клеточных стенок актиномицетов. Биосорбция представляет собой пассивный процесс, поскольку мертвые клетки, как было показано [315], также обладают высокой сорбционной способностью. В числе актив-

ных механизмов адаптации актинобактерий к токсичности металлов отмечены биосинтез сидерофоров [280] и пигментов, например меланина, который обеспечивает защиту от токсических эффектов даже после проникновения ТМ в клетку [343]. Выделенные из сильно загрязненных локусов устойчивые к свинцу и цинку штаммы стрептомицетов пригодны для использования в проектах по биоремедиации почв [345], в результате чего оптимизируются условия и для жизнедеятельности растений.

Устойчивые к «металлическому прессингу» стрептомицеты выделены преимущественно из источников, подвергшихся сильному загрязнению ТМ: шахт, промышленных отвалов, сточных вод [2, 295, 316]. Однако для других бактерий известны случаи выделения штаммов, устойчивых к ТМ, и из незагрязненных природных источников [206, 279]. Результаты наших исследований показали, что комплексы стрептомицетов в почвах сходного генезиса, но с различной степенью загрязнения ТМ при относительно высоком сходстве таксономической структуры могут значительно различаться по своим функциональным проявлениям (табл. 76).

Таблица 76

Изменение кинетики роста стрептомицетов на средах с добавлением ТМ в зависимости от загрязнения почвы-источника выделения

Изоляты	Кг (мкм/час)			
	Контроль	На средах с добавлением 3 мг/л		
		Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>
Выделенные из почв с повышенным содержанием ТМ	23,7±6,48	28,7±4,27	32,3±7,95	33,7±7,69
Выделенные из фоновых почв	37,3±6,8	23,1±6,89	26,6±10,03	16,7±7,19

*Примечание.* Приведены средние значения удельной скорости роста для 10 природных изолятов стрептомицетов.

Средняя удельная скорость роста стрептомицетов из фоновых почв (37,3±6,8 мкм/час) на среде без добавления ионов ТМ (контроль) была существенно выше, чем средняя удельная скорость изолятов из загрязненных ТМ городских почв (23,7±6,48 мкм/час). Вместе с тем стрептомицетные комплексы, подвергшиеся селективному давлению металлов-загрязнителей городской среды, характеризовались более высокой частотой встречаемостью представителей, увеличивающих радиальную скорость роста под влиянием невысоких доз свинца, меди и цинка, чем комплекс стрептомицетов фонового участка. Особенно

значительными (в два раза) были различия между стрептомицетами, выделенными из почв разной степени загрязнения ТМ, по скорости роста в присутствии ионов меди. Эффективным способом защиты стрептомицетов от меди является деятельность экстрацеллюлярных Cu(II)-редуктаз, которые катализируют превращение токсичных форм в менее токсичные – Cu(I) [258]. В развитии данного защитного механизма важную роль играет преадаптация микроорганизмов к стрессору. Авторы указывают, что активность Cu-редуктаз обнаруживалась как у адаптированных, так и у не адаптированных к меди культур, но в первом случае этот показатель был в 100 раз выше, чем во втором.

Кинетическая реакция на возрастающие концентрации металлов в среде зависела от природы металла и вида стрептомицета. Минимальная ингибирующая рост стрептомицетов концентрация для меди (6 мкг/мл) была значительно ниже, чем для цинка (115 мкг/л). Для свинца ингибирующая концентрация в исследованном диапазоне (3–30 мкг/мл) не выявлена. Устойчивые к свинцу, цинку и меди штаммы стрептомицетов встречались как в городских (*S. bacillaris* у-52, *S. californicus* у-53) почвах, так и в почве фоновой (*S. sindenensis* н-3, *S. aureofaciens* н-4). Если в первом случае их устойчивость являлась следствием адаптации к постоянному воздействию на них ТМ, то во втором, очевидно, – индукции «спящих» генов устойчивости [252].

В модельных экспериментах сравнительная оценка накопления биомассы в присутствии ТМ, а также сорбции ТМ в жидкой среде культурами стрептомицетов, выделенными из почв с различной степенью загрязнения ТМ, показала следующее. В жидкой среде с добавлением 10 мг/л  $Pb^{2+}$  более высокую, чем в контроле, биомассу наращивали культуры стрептомицетов из фоновой почвы ГПЗ «Нургуш», а более низкую – культуры из городских почв. Величина сорбции свинца мицелиальной массой стрептомицетов не была непосредственно связана с устойчивостью штамма к металлу.

Сорбция меди из раствора находилась на более низком уровне, чем свинца. Максимальное снижение концентрации меди в жидкой среде достигало 80% при выращивании стрептомицетов из незагрязненных почв. Изоляты стрептомицетов из загрязненной ТМ почвы снижали концентрацию меди в процессе роста не более чем на 71%. Максимальное содержание меди (2615 мг/кг) было отмечено в мицелии изолята *S. aureofaciens* у-61, выделенного из урбанозема.

Степень извлечения цинка из среды, содержащей первоначально 10 мг/л  $Zn^{2+}$ , достигала 95% для изолятов стрептомицетов из чис-

той почвы ГПЗ «Нургуш». У культур стрептомицетов, изолированных из городских почв, этот показатель не превышал 50%. Стрептомицеты *S. bacillaris* у-53 и *S. lavendulae* у-51 за время опыта не снизили концентрацию цинка в жидкой среде, хотя их биомасса на 11 и 30% соответственно превысила контрольные значения. При начальной концентрации цинка 80 мг/л максимальное снижение (на 70%) концентрации металла в среде было отмечено для изолятов из городских почв *S. clavuligerus* у-21 (25968 мг/кг) и *S. exfoliatus* у-56 (21437,5 мг/кг) [208].

Таким образом, интенсивнее наращивали биомассу и в большей степени снижали начальную концентрацию металлов в жидкой среде стрептомицеты из не загрязненных ТМ городских почв, чем культуры из загрязненных. Это говорит о большом адаптационном потенциале стрептомицетов и возможности их использования в современных биоремедиационных технологиях. Выявленные особенности почвенных стрептомицетов представляют интерес также в связи с созданием биосенсорных систем для обнаружения металлов.

#### **4.4. Использование растительно-ризомикробных комплексов в биоремедиации**

Процессы колонизации корневой поверхности бактериями не отличаются высокой избирательностью, и многие почвенные МО могут заселять корни самых разных растений, что создает условия для «селекции» растением потенциально полезных штаммов. Фундаментальной стратегией микробно-растительного взаимодействия является подавление активности (биологический контроль) естественных врагов растений. Эта стратегия осуществляется следующим образом: МО синтезируют вторичные метаболиты, ингибирующие развитие антагонистов; растение, в свою очередь, снабжает защитных симбионтов питательными веществами и предоставляет им специальные экологические ниши, а иногда и направленно регулирует их биоконтрольные функции [216].

В настоящее время доказано, что помимо биоконтроля фитопатогенов ризобактерии способны осуществлять освобождение почв от загрязнителей и ксенобиотиков в процессе, получившем название «биоремедиация» (в данном случае микробная биоремедиация).

Фиторемедиация – применение растений для очистки загрязненных экосистем. Более десяти фиторемедиационных систем, в которых

используют способность растений адсорбировать загрязнители, стали главной составляющей «очистительных» программ по всему миру. К 1998 г. повсеместно было обнаружено около 400 природных растений, способных адсорбировать различные вещества, такие как ТМ, мышьяк и фтор. Основные достоинства фиторемедиации заключаются в возможности рекультивации больших территорий, более низкой стоимости по сравнению с другими технологиями, высокой эффективности и отсутствии негативного влияния на ОС. Потенциальные возможности детоксикации у растений обусловлены их анатомическим и морфологическим строением, особенностями физиологических и биохимических процессов. Основные фиторемедиационные технологии: фитоэкстракция, ризофилтрация, фитостабилизация, ризодеградация, фитодegradация, фитоиспарение [157, 220, 237]. Фитоэкстракция (фитоаккумуляция) заключается в поглощении ТМ корнями и транслокации их в надземную часть растений и применяется для очистки загрязненных ТМ почв. Высокой способностью накапливать ТМ часто характеризуются трансгенные растения (ТГ). По экспертным оценкам, ТГ растения недороги и эффективны в накоплении ТМ из загрязненной ОС. Существуют трансгены – гипераккумуляторы ТМ, накапливающие в пересчете на сухую массу более 1% Mn, более 0,1% Ni, Co, Cu, Cr, Zn и Pb, более 0,01% Cd. При ризофилтрации (фитофилтрации) происходит адсорбция или осаждение растворенных в воде солей металлов на поверхности корней или других частей водных или наземных растений. Высушенные, сожженные или компостированные остатки растений, содержащих повышенные концентрации загрязнителей, после их аккумуляции, сорбции или осаждения утилизируются и перерабатываются. При фитостабилизации осуществляется перевод веществ из растворимой формы в нерастворимую в корневой зоне растений. Технологии фитоиспарения (фитовыпаривание, фитоволятизация) позволяют удалить загрязнители из почвы и грунтовых вод в газообразной форме, после чего он рассеивается до безопасных концентраций или подвергается фотоокислению. При ризодеградации (фитостимуляции) активными участниками фиторемедиационных мероприятий становятся ризосферные микроорганизмы, осуществляющие деструкцию органических загрязнителей. Фитодegradация (фитотрансформация) – процесс биотрансформации или дegradации загрязнителей растительными ферментами [29].

Бактеризация растений МО-деструкторами углеводов способствует преодолению поллютантного стресса, увеличивая прирост надземной и подземной биомассы, оказывает влияние на фотосинте-

тический аппарат растений, морфологию корней и корневую экссудацию. Изменение корневой экссудации происходит под влиянием метаболической активности микроорганизма-инокулянта, которая, в свою очередь, зависит от присутствия в среде поллютанта [155].

Предпринята попытка создания стратегии биоремедиации экосистем в зонах химического загрязнения высокотоксичным ракетным топливом, которая основывается на результатах комплексных исследований закономерностей взаимодействия с токсикантом почв, растений и сопутствующей микрофлоры [93]. Важнейшим элементом разрабатываемой стратегии является снижение содержания ксенобиотиков в хозяйственно полезной части культурных и дикорастущих растений в районах падения отделяющихся ступеней ракет и зонах действия особо опасных химических производств с помощью созданного авторами стратегии кремнийсодержащего хелатного микроудобрения и его новых композиций. Данные препараты снижают поступление ксенобиотика и продуктов его деструкции в растение, а также компенсируют в зонах экологического риска в получаемой растительной продукции недостающие микроэлементы и биологически активные соединения [29].

При отборе растений для биоремедиации используют результаты опытов по тестированию на устойчивость при проращивании семян различных видов на загрязненных средах или непосредственно, отбирая растения в природных условиях при тех или иных видах загрязнения. Так, в серии вегетационных опытов с искусственным загрязнением почвы химически чистыми солями ТМ (Cu, Pb, Zn) было установлено, что все испытываемые культуры при внесении в почву 5 ОДК (ориентировочно допустимое количество) ТМ по величине урожайности располагаются в следующем порядке: кормовые бобы > сурепка > гречиха > пырей > тимофеевка луговая [29, 34].

Было проведено сравнение прорастания семян люцерны и овсяницы на почве, постоянно загрязненной дизельным топливом. Показано, что овсяница проявляет более высокую жизнеспособность, чем люцерна, является относительно толерантной к дизельному топливу, и поэтому семена овсяницы могут быть использованы для фитовосстановления дизельнозагрязненных почв [29, 259].

Такие растения, как крестовник и лисохвост, способны в условиях тундры заселять почву с загрязнением нефтью 10–27%, создавая при этом, благодаря активности почвенных МО, очищенные зоны вблизи корней. Как показывает микробиологический анализ, в ризосфере этих

растений численность бактерий и грибов на три-четыре порядка выше, чем в загрязненной почве без растений. Делается вывод, что крестовник и лисохвост ускоряют самоочищение загрязненных НП почв и могут быть рекомендованы для их фиторемедиации [29, 234].

Интересны опыты по использованию декоративных культур как фитомелиорантов в городской среде. Показано, что бархатцы, бегонии, амарант и четыре вида газонных злаков (райграс пастбищный, овсяница красная, костер безостый, мятлик луговой) способны аккумулировать свинец и кадмий в своих органах. В конце вегетационного периода растения следует удалять с клумб и цветников вместе с корневой системой для дальнейшей утилизации [29, 46].

Создана концептуальная модель технологии фитоэкстракции как одного из экономичных и «мягких» способов ремедиации почв, загрязненных ТМ. Среди культурных или местных дикорастущих растений подбираются виды, производящие большую биомассу и максимально аккумулирующие ТМ без выраженных признаков фитотоксичности. Скорость очистки почв от ТМ повышается за счет использования так называемых эффекторов фитоэкстракции, многократно увеличивающих накопление загрязнителей в пожинаемой надземной массе. В этом качестве чаще всего выступают хелатообразующие агенты. Полученную биомассу утилизируют путем рекуперации ценных цветных металлов либо используют как биотопливо [29, 46].

Ризосферные микробы-комменсалы играют огромную роль в жизни растений. Давно установлена их положительная роль в обеспечении минерального питания растений, выявлена ростстимулирующая и азотфиксирующая, антагонистическая активность. Многие ассоциированные с растениями МО используют молекулы аутоиндукторы, в том числе N-ацил-гомосеринлактоны, для регуляции различного поведения в зависимости от плотности популяции (чувства кворума). Локальные условия в микроскопическом масштабе могут влиять на длительность жизни сигнальных молекул, их стабильность и накопление, и это может давать дополнительную информацию к плотности клеток [324]. В процессе формирования растительно-микробных симбиозов задействованы многие механизмы. Так, например, для формирования цианобактериально-растительного симбиоза существует необходимость транспортера сахаров *N. punctiforme* [282].

Одним из факторов, снижающих эффективность детоксикации поллютантов МО, является их относительно низкая численность в почве без дополнительных источников органического вещества, ко-

торое для гетеротрофных микробов необходимо как источник питания и энергии [29]. В то же время в ризосфере, где в результате экзосмоса постоянно депонируются легкодоступные органические вещества в виде сахаров, органических кислот, аминокислот (у бобовых), численность МО может быть на 1–2 порядка выше. В силу взаимовыгодного сосуществования растительно-микробные ассоциации и симбиозы имеют большие преимущества при выживании в неблагоприятных условиях. При этом их выживание обусловлено не только повышением толерантности к ксенобиотикам, но и активным удалением токсикантов из сферы обитания [220]. Фитопротекторный эффект реализуется последовательностью событий: бактерии синтезируют фитогормоны (ИУК, этилен), за счет чего усиливается экскреторная активность корней, соответственно, растет число бактерий в ризоплане и увеличивается число бактерий, связывающих токсичные ионы в ризосфере. В результате уменьшается число свободных ионов, попадающих в растение [176]. В связи с этим привлекательно и перспективно комбинированное использование растений и ризосферных МО, стимулирующих рост растений и одновременно обладающих способностью к деградации поллютантов, устойчивости к ТМ и другим неблагоприятным факторам. В этом плане можно рассматривать два аспекта интродукции толерантных МО в ризосферу: 1) при выращивании хозяйственно ценных растений на загрязненных территориях добиваться снижения поступления токсикантов в органы растения и делать сельскохозяйственную продукцию безопасной для человека; 2) снижать токсичность почвы вследствие деградации поллютанта или закрепления его в клетках МО или высших растений, которые в дальнейшем отчуждаются из почвы без использования на пищевые или кормовые цели [29].

В настоящее время инокуляция посадочного материала МО используется в различных целях. Например, существуют убедительные доказательства ускорения хода сукцессий в растительных сообществах при цианобактериальной интродукции [310]. Эти опыты были проведены в провинции Внутренняя Монголия в Китае на границе степи и пустыни при посадке ивы. После посадки в течение трех лет почвенный покров не образовывался. Инокуляция нитчатых ЦБ приводила к образованию покрова на грунте, который постепенно заменялся моховым покровом. Почвенные условия улучшались, и появлялась возможность для роста цветковых растений. За восемь лет на экспериментальном участке поселилось 27 видов преимуществен-

но сложноцветных (астровых), злаков, маревых и бобовых. На теневой стороне дюн возник покров из ЦБ и дальнейшие сукцессии происходят быстрее, чем на солнечной.

Преимущества растительно-микробных ассоциаций при выживании в неблагоприятных условиях обусловлены как повышенной толерантностью к ксенобиотикам, так и активным удалением токсикантов из сферы обитания [220].

При разработке биотехнологий ремедиации загрязненных почв на основе микробно-растительного взаимодействия одним из наиболее перспективных направлений считают комбинированное использование растений-гипераккумуляторов (например, ТМ) и МО, способного к деградации того или иного поллютанта, устойчивого к ТМ или другой комбинации необходимых свойств [32].

Специфический видовой состав микромицетов формируется в ризосфере растений в процессе фиторемедиации нефтезагрязненных почв [1]. Нефтяное загрязнение меняет встречаемость отдельных видов грибов. Показано, что в процессе фиторемедиации таких почв с помощью люцерны видовой состав микроскопических грибов формируется под одновременным воздействием поллютанта и корневой системы растений, и в этом комплексе доминирующую роль играют представители р.р. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

Инокуляцию семян различными группами МО применяют с разными целями. Одной из них является повышение уровня биоремедиационного потенциала высших растений, выращиваемых в загрязненных почвах. Сочетание разных культур растений, разных МО применительно к обезвреживанию различных токсикантов имеет и разные последствия. При выращивании ячменя в условиях искусственного загрязнения почвы кадмием и свинцом в концентрациях 3 ПДК и 10 ПДК с инокуляцией семян тремя штаммами ассоциативных азотфиксаторов было выявлено, что бактериализация не влияла на поступление свинца в растение, но снижала поступление кадмия в растение до 57% [213].

Для выращивания растений в никель-загрязненной почве провели испытание пяти штаммов бактерий, перспективных для инокуляции семян и в том плане, что они способны ускорять рост растений вследствие способности растворять фосфаты, выделять ИУК и осуществлять биоконтроль фитопатогенов. Эти штаммы были способны расти и продуцировать сидерофоры в присутствии Ni, Zn, Cd. Бактериальная инокуляция нута увеличивала сухую массу растений при за-

грязнении почвы Ni. У инокулированных *Pseudomonas* растений вдвое уменьшалась аккумуляция Ni, а биомасса увеличивалась. Таким образом, показана перспективность этих регулирующих рост МО для усиления роста в никель-загрязненной почвах и очистке их от загрязнения [368].

Биопрепараты на основе ассоциативных бактерий «Микробиовит» и «Енисей» использовали для обработки семян пшеницы при воздействии сульфатом цинка в разных концентрациях. Было показано, что ассоциативные МО данных препаратов в концентрации  $10^4$ – $10^6$  кл./мл способны полностью или частично снимать негативное действие соли цинка на прорастание семян в интервале от 2 до 32 ПДК [209].

В серии опытов было показано, что микробиологическая обработка семян снижает поступление ТМ в органы растений. Так, при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями *Azospirillum lipoferum*, *Arthrobacter mysorens*, *Agrobacterium radiobacter*, *Flavobacterium* sp. происходила активная колонизация корней ячменя сорта Абава в присутствии токсичных для растений концентраций свинца и кадмия в почве (до 10 ПДК). Бактеризация семян положительно влияла на рост и улучшала потребление питательных элементов растениями из обогащенной тяжелыми металлами почвы в условиях вегетационного и полевого опытов. Предпосевная обработка семян агробактериумом и флавобактериумом снижала поступление кадмия в разные органы растений на 6–40%. Бактеризация семян азоспириллой и агробактерией снижала поступление кадмия и свинца в растения на 10–50% [24, 29, 213].

Плазмидосодержащие штаммы бактерий р. *Pseudomonas*, разлагающие полициклические ароматические углеводороды, при инокуляции семян ячменя эффективно защищают растения от фитотоксического действия углеводородов нефти [9].

Для фиторемедиации почв, загрязненных мышьяком, использовали сахарное сорго, семена которого инокулировали природными и генетически модифицированными штаммами ризосферных бактерий *Ps. aureofaciens* [200]. Генетически модифицированные штаммы бактерий содержали конструкции, которые несли оперон устойчивости к мышьяку и содержали ген цитрат-синтазы, продукты которой способствуют повышению растворимости фосфатов и арсенатов в почве, переводя их тем самым в доступную для растений форму. Растения сорго, выращенные из семян, инокулированных рекомбинантными штаммами, лучше выживали в почве, содержащей мышьяк, по сравнению с контрольными растениями. Через 35 суток после обработки

растения, инокулированные штаммом, растворяющим фосфаты, содержали мышьяка почти на 30% больше, а растения, инокулированные штаммом, повышающим устойчивость к мышьяку, – на 20% больше, чем не инокулированные [200]. Техника комбинированной биофитоочистки загрязненных почв или вод предполагает выращивание растений хлопчатника, бобов, кукурузы или папоротника на загрязненных ТМ, мышьяком, цианидами субстратах в ассоциациях с ризосферными МО, синергически взаимодействующими, не токсичными, не патогенными, способными питаться корневыми экссудатами растений (грибами *Trichoderma* spp., бактериями *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*) [29]. Эта система, будучи привнесена в загрязненный субстрат, эффективно и быстро поглощает токсины, аккумулирует и разлагает загрязнители и сильно снижает токсичность ПАУ и фенолов в почве и воде [383].

Многие МО разных таксономических групп и их ассоциации с водными растениями (азоллой, ряской, эйхорнией) способны аккумулировать ионы металлов Ni, Pt, Cu, Pb, Cr, Zn, Ti, Au, а также участвовать в деградации углеводов и других поллютантов. В перспективе возможна очистка сельскохозяйственных и промышленных сточных вод от токсичных ТМ с помощью подобных ассоциаций [50].

Растительно-микробные системы в биоремедиации универсальны тем, что их можно применять для очистки среды от самых разных загрязнителей, подбирая комбинации компонентов микроорганизмы – растения – загрязненная среда [29]. К числу наиболее перспективных микробов-интродуцентов можно отнести ЦБ, образующие цианобактериально-ризобиальные комплексы.

Ранее в серии опытов с альгологически чистыми культурами ЦБ и многовидовыми природными цианобактериальными БП была показана защитная роль ЦБ в предотвращении свинцового стресса у растений непосредственно в почве [82, 163, 224].

В следующей серии опытов по изучению эффективности растительно-цианобактериальных комплексов в очистке почвы от ионов меди проводили: 1) подбор оптимальных сочетаний пищевая культура + ЦБ, при которых ЦБ выступает в качестве ловушки для ионов меди и обеспечивает чистоту полученного урожая; 2) подбор оптимальных сочетаний высшее растение-ремедиатор + ЦБ, при которых цианобактериальная обработка увеличивает вынос ионов меди растением из почвы [56].

В ходе данного микроделяночного опыта, заложенного на опытном поле ВГСХА, изучали реакцию высших растений на искусственное загрязнение почвы ионами  $\text{Cu}^{2+}$ . Почва дерново-подзолистая, среднесуглинистая; рН – 4,1; гумус – 1,86%;  $\text{P}_2\text{O}_5$  – 145,5 мг/кг;  $\text{K}_2\text{O}$  – 127,5 мг/кг; S – 13,3 мг/кг; Cu – 0,22 мг/кг (фоновое содержание). Площадь учетной делянки – 0,24 м<sup>2</sup> [56].

Для опыта в качестве объектов исследования были выбраны представители разных семейств: злаковые – пшеница сорта Ирень (*Triticum aestivum*), бобовые – горох сорта Лучезарный (*Pisum sativum*), крестоцветные – горчица белая (*Sinapis alba*), лабораторная всхожесть которых составила 92%, 99% и 95% соответственно. Для предпосевной обработки семян использовали штаммы ЦБ *N. linckia* и *Fisch. muscicola*. Культуры ЦБ выращивали на среде Громова № 6 без азота в течение трех недель в люминостате при постоянной температуре (+25 °С) и освещении (3000 лк). Инокулят доводили до титра  $8,3 \cdot 10^8$  кл./мл путем разбавления исходной культуры дистиллированной водой. Перед посевом семена предварительно замачивали в инокуляте в течение 12 ч. Уборку урожая проводили через 15 (пшеница), 13 (горох) и 11 недель (горчица) после посева [56].

В качестве поллютанта использована медь в виде соли ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) в различных концентрациях – 3 и 300 мг/кг, что соответствует 1 и 100 ПДК для почвы. Водные растворы токсикантов вносили в почву после посадки семян, проливая 10–15 см верхнего горизонта [56].

#### **4.4.1. Роль цианобактериальной обработки семян в повышении урожайности сельскохозяйственных культур**

Давно известно, что ЦБ являются продуцентами широкого спектра биологически активных веществ, способных оказывать положительное действие на рост и развитие высших растений [202]. В наших опытах определение урожайности пшеницы показало, что предпосевная обработка семян как ЦБ *Fisch. muscicola*, так и ЦБ *N. linckia* ведет к стимуляции урожайности культуры по сравнению с контролем. Эта закономерность прослеживается и при увеличении содержания  $\text{Cu}^{2+}$  в почве (рис. 52). На уровне контроля и при концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  3 мг/кг показатели урожайности культур, обработанных ЦБ, сходны и колеблются от 70,6 г/м<sup>2</sup> (*Fisch. muscicola*) до 73,6 г/м<sup>2</sup> (*N. linckia*) в случае контроля, и от 69,2 г/м<sup>2</sup> (*Fisch. muscicola*) до 78,7 г/м<sup>2</sup> (*N. linckia*) при

минимальной исследуемой концентрации поллютанта. Полученные данные свидетельствуют о том, что при низких концентрациях ТМ инокуляция семян ЦБ *N. linckia* приводит к увеличению урожайности до 1,7 раза по сравнению с контролем [56].

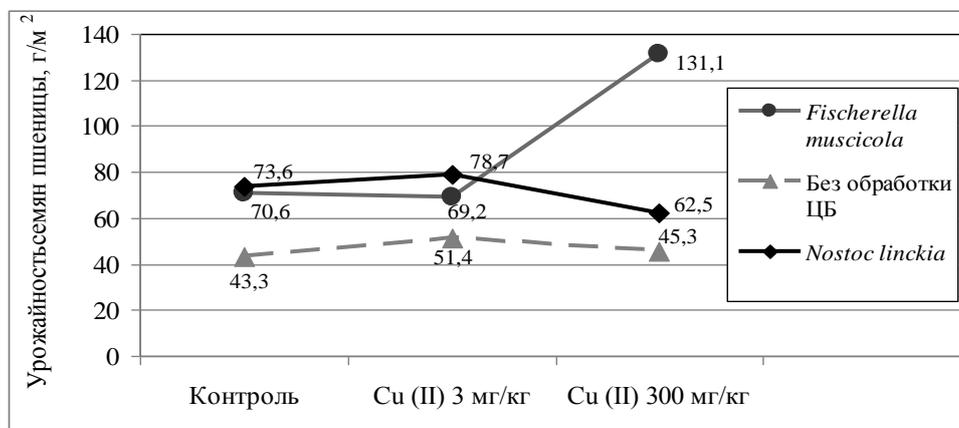


Рис. 52. Влияние цианобактериальной инокуляции на урожайность семян пшеницы при выращивании в медьзагрязненной почве, г/м<sup>2</sup>

При высокой концентрации соли меди урожайность зерна пшеницы при обработке ЦБ *Fisch. muscicola* возросла на 189% при 100 ПДК относительно контроля. Обработка семян пшеницы ЦБ *N. linckia* при высоких концентрациях поллютанта также увеличивала показатели урожайности на 38%. В обоих случаях обработка семян пшеницы ЦБ повышала урожайность данной сельскохозяйственной культуры. В варианте с обработкой семян ЦБ *Fisch. muscicola* наблюдается зависимость урожайности от концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  в почве: с повышением дозы ТМ урожайность культуры увеличивается ( $r_{\text{П}} = 0,9996$ ). В противоположность этому в опытах с горохом показано, что действие растущих концентраций  $\text{Cu}^{2+}$  неблагоприятно сказывается на урожайности гороха (рис. 53). Наблюдаемое снижение урожайности при увеличении концентрации ТМ (до 60% в контроле), может быть не только следствием действия ТМ, но и накопления в почве токсинов грибного происхождения. При высоких дозах  $\text{Cu}^{2+}$  (300 мг/кг) обработка семян гороха ЦБ *N. linckia* и *Fisch. Muscicola* приводит к падению урожайности по сравнению с контролем – на 54 и 34% соответственно. В целом при цианобактериальной обработке семян гороха наблюдается уменьшение урожайности семян в условиях «медного стресса» [56].

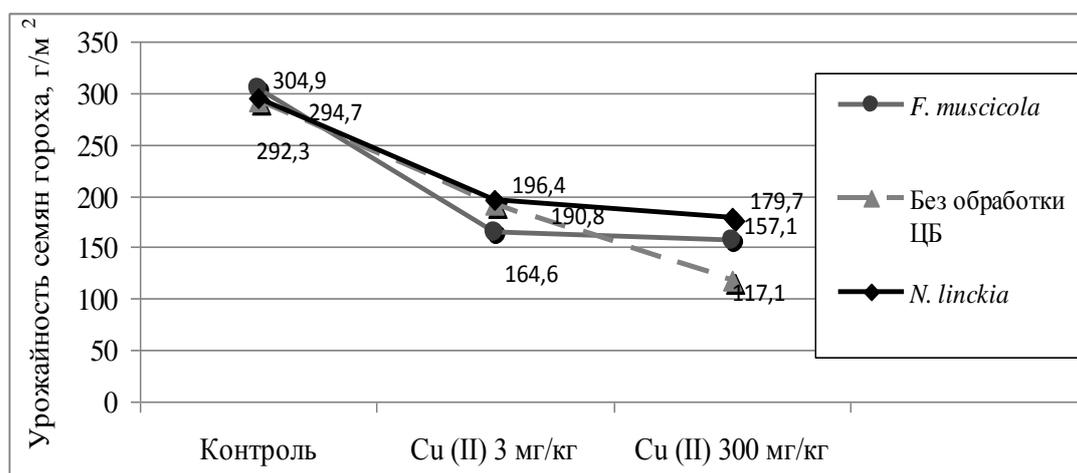


Рис. 53. Влияние цианобактериальной обработки семян на урожайность гороха в медьзагрязненной почве, г/м<sup>2</sup>

Обработка семян горчицы белой ЦБ *Fisch. muscicola* не приводит к уменьшению показателей урожайности культуры (рис. 54). При концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  3 мг/кг значения урожайности семян горчицы при обработке ЦБ *N. linckia* остаются на одном уровне с контролем [56]. Однако увеличение дозы ТМ приводит к стимуляции роста урожайности культуры до 278,8 г/м<sup>2</sup> при 100 ПДК (на 97% выше, чем в контроле). Таким образом, обработка семян горчицы белой ЦБ *N. linckia* оказывает стимулирующее и ростактивирующее действие при высоких дозах ТМ ( $r_{\text{II}} = 0,8469$ ). По полученным данным видно, что обработка семян горчицы ЦБ *Fisch. muscicola* не приводит к увеличению урожайности: в контроле 216,4 г/м<sup>2</sup>, 138,2 г/м<sup>2</sup> при концентрации меди 3 мг/кг, 141,8 г/м<sup>2</sup> при концентрации 300 мг/кг. Наоборот, наблюдается противоположный эффект: с увеличением дозы ТМ снижается урожайность культуры [56].

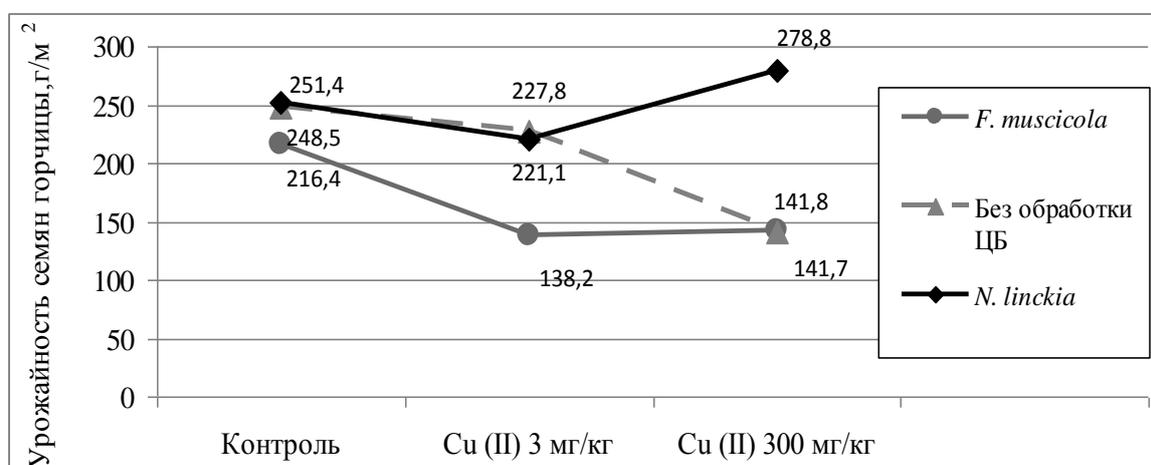


Рис. 54. Влияние цианобактериальной обработки семян на урожайность горчицы при выращивании в медьзагрязненной почве, г/м<sup>2</sup>

Таким образом, доказано, что возрастающие концентрации ТМ неоднозначно влияют на урожайность горчицы. Так, при концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  300 мг/кг и предварительной инокуляции семян *Fisch. muscicola* урожайность зерна возрастает на 189%. Повышение содержания  $\text{Cu}^{2+}$  в почве до 300 мг/кг приводит к росту этого показателя в варианте с *N. linckia*. Получен рекордный урожай горчицы – 278,8 г/м<sup>2</sup>, что говорит о ростактивирующем действии данной ЦБ [56].

#### **4.4.2. Влияние ионов меди(II) на накопление антоциановых пигментов высшими растениями**

Антоцианы (флавоноиды) – природные красящие вещества из группы флавоноидов – сильные антиоксиданты и вторичные метаболиты. Антоцианы нужны не только для того, чтобы яркой окраской привлекать насекомых-опылителей и распространителей семян, но и для борьбы с различными типами стрессов. По содержанию в растении антоцианов можно судить о степени токсичности загрязнителей в ОС. При увеличении биосинтеза антоциановых пигментов и, соответственно, снижении окислительных повреждений наблюдается неспецифическая реакция на стресс. Так, растения, содержащие большое количество антоцианов, обладают повышенной устойчивостью к загрязнению воздуха газами городской среды [56, 148].

Определение антоциановых пигментов проводили в листьях растений, расположенных в 30 см от поверхности почвы, возраст культур – девять недель. Опыты показали, что цианобактериальная обработка семян пшеницы в вариантах на фоновых территориях не приводит к стимуляции выработки антоциановых пигментов (рис. 55). Напротив, наблюдается спад содержания пигментов до 21,9% (*N. linckia*) и до 37,5% (*Fisch. muscicola*) по сравнению с контролем. Вероятно, это связано с малым содержанием  $\text{Cu}^{2+}$  в почве фоновой территории –  $0,22 \pm 0,02$  мг/кг [56].

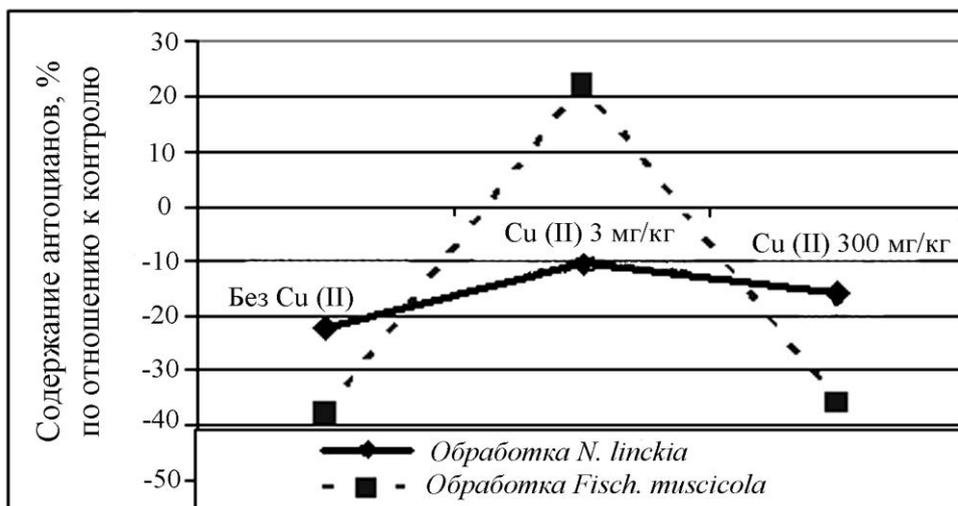


Рис. 55. Влияние ионов меди(II) на содержание антоциановых пигментов в листьях пшеницы, инокулированной ЦБ (% от контроля)

При высоких концентрациях  $\text{Cu}^{2+}$  (300 мг/кг) также замечено снижение содержания низкомолекулярных антиоксидантов в листьях пшеницы – 15,6% и 35,6% к контролю при обработке ЦБ *N. linckia* и *Fisch. muscicola*. Под действием высоких концентраций ТМ наблюдается неспособность к накоплению в тканях антоцианов. Вероятно, это обусловлено тем, что в стрессовых условиях в растениях генерируются активные формы кислорода, которые могут вызвать в клетках окислительные повреждения многих веществ, включая липиды мембран [214]. При концентрации меди в почве 3 мг/кг прослеживается усиление интенсивности защитных окислительных процессов, которое направлено на снижение окислительных повреждений под действием стресс-факторов. Так, предпосевная обработка семян пшеницы ЦБ *Fisch. muscicola* повышает содержание антоцианов на 22,5% выше контроля [56].

Другие авторы также установили, что разные поллютанты, например, такие как свинец и нефть, повышают уровень антоциановых пигментов в растительных тканях [18].

Уровень накопления антоциановых пигментов зависит от концентрации ТМ в почве. Как и в варианте с пшеницей, наиболее интенсивное образование пигментов в листьях гороха прослеживается в вариантах с обработкой семян *Fisch. muscicola* и содержанием меди в почве 3 мг/кг (рис. 56). Наблюдается запуск антиоксидантной системы, который выражается в накоплении антоцианов и является ответной реакцией организма на окислительный стресс [56].

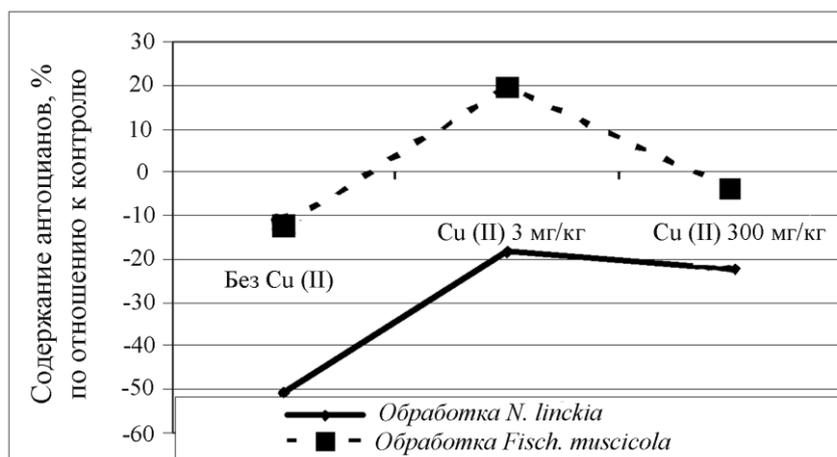


Рис. 56. Влияние ионов меди(II) на содержание антоциановых пигментов в листьях гороха, инокулированной ЦБ (% от контроля)

В контроле зафиксированы самые низкие значения пигментов как при обработке ЦБ *Fisch. muscicola*, так и *N. linckia*:  $-50,6\%$  и  $-12,4\%$  ниже контроля. Значения ниже фонового наблюдаются и в варианте с содержанием  $\text{Cu}^{2+}$  в почве  $300 \text{ мг/кг}$ . Данное значение связано с разрушением большого количества веществ, которые отвечают за целостность клетки. Но в целом результаты выше, чем в контрольном варианте [56].

Таким образом, инокуляция семян гороха ЦБ *Fisch. muscicola* приводит к более интенсивному накоплению веществ с антиоксидантными свойствами в процессе вегетации – антоцианов растений.

Максимальные значения накопления антоцианов характерны для растений в почве фоновой территории при обработке семян горчицы ЦБ *N. linckia* и *Fisch. muscicola*:  $-47,92\%$  и  $39,6\%$  соответственно (рис. 57) [56].

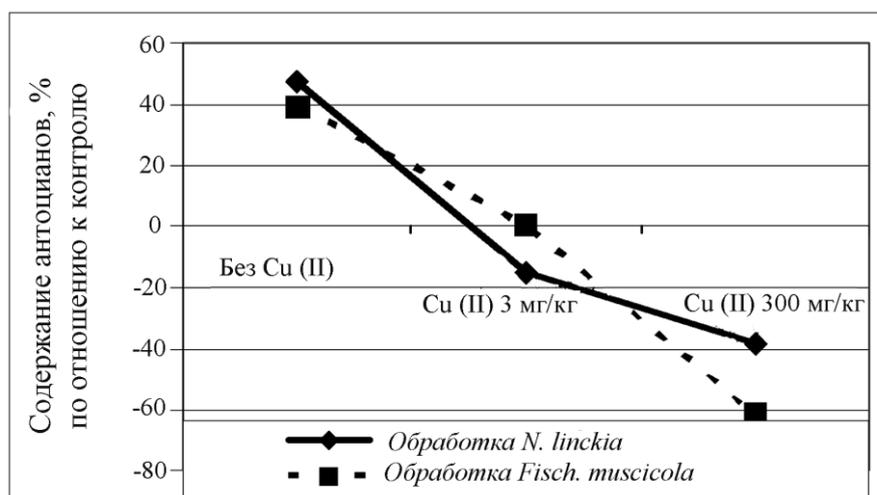


Рис. 57. Влияние ионов меди(II) на содержание антоциановых пигментов в листьях горчицы, инокулированной ЦБ (% от контроля)

Таким образом, проведенные эксперименты выявили определенный тренд в накоплении антоцианов в горчице: с увеличением концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  уменьшается содержание антоцианов (коэффициент корреляции Пирсона:  $r_{\text{П}}(N. \text{linckia}) = -0,7146$  и  $r_{\text{П}}(\text{Fisch. muscicola}) = -0,9244$ ). Вероятно, это связано с тем, что усиление токсического эффекта  $\text{Cu}^{2+}$  обусловлено повышением извлечения  $\text{Cu}^{2+}$  горчицей в комплексе с МО. Таким образом, ассоциация горчицы белой, ЦБ *Fisch. muscicola* и *N. linckia* приводит к увеличению количества антоцианов. Усиление фиторемедиационных способностей *S. alba* при цианобактериальной обработке, вероятно, вызвано адаптационными перестройками растения. Падение уровня пигментов с увеличением концентраций ТМ в почве может определяться нарушением целостности мембран, инактивацией ферментов и разрушением нуклеиновых кислот, поскольку под действием поллютантов в клетках инактивируются окислительные процессы [56, 182].

Таким образом, предпосевная цианобактериальная инокуляция семян, влияющая на содержание антоциановых пигментов в растении, является одним из показателей уровня извлечения меди из почвы.

#### **4.4.3. Роль предпосевной цианобактериальной обработки семян высших растений в сорбции ионов меди (II) из загрязненной почвы**

В серии опытов изучалось влияние ЦБ *Fisch. muscicola* и *N. linkia* на уровень накопления ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в семенах и вегетативной массе пшеницы сорта Ирень, гороха сорта Лучезарный и горчицы белой при выращивании в почве, искусственно загрязненной медью. Определение содержания ТМ в семенах и вегетативной массе показало, что в случае предпосевной обработки семян пшеницы ЦБ *N. linckia* и *Fisch. muscicola* содержание ТМ в семенах выше, чем в вегетативной массе, во всех вариантах. В контрольном варианте с фоновым содержанием  $\text{Cu}^{2+}$ , равным 0,22 мг/кг, и варианте с дозой ТМ 3 мг/кг значения находятся примерно на одном уровне – 4,55 и 2,02% (рис. 58). В варианте с внесением  $\text{Cu}^{2+}$  в почву в концентрации 300 мг/кг отмечаются максимальные значения сорбции – +19,29% к контролю. В целом в вариантах с предварительной обработкой семян ЦБ *Fisch. muscicola* прослеживается положительная динамика в извлечении ТМ из почвы [56].

Противоположные результаты наблюдаются в вариантах с обработкой семян пшеницы ЦБ *N. linckia* – с увеличением концентрации

ТМ в почве уровень сорбции пшеницы падает ( $r_{II} = -0,8865$ ). Таким образом, происходит снижение уровня поступления  $Cu^{2+}$  в наземную часть растения благодаря защитному эффекту ЦБ при высоких дозах ТМ, которое заключается в блокировании поступления ионов  $Cu^{2+}$  из почвы в надземную часть растения [56].

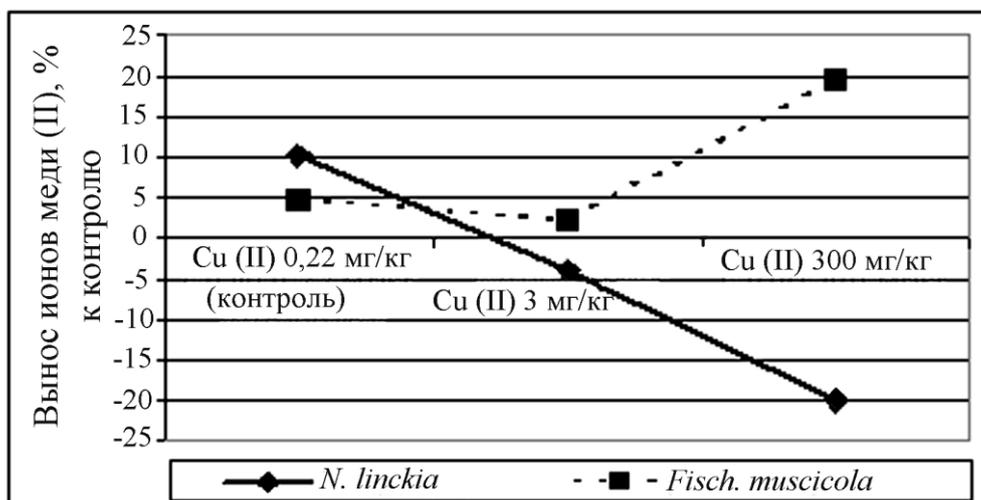


Рис. 58. Содержание ионов меди (II) в надземной части пшеницы, инокулированной ЦБ, % к контролю

В целом обработка семян пшеницы ЦБ *Fisch. muscicola* повышает уровень сорбции растением ионов ТМ, а ЦБ *N. linckia*, наоборот, обладает защитными свойствами в условиях загрязнения почвы Cu.

Химический анализ надземной массы гороха показал, что содержание подвижных форм ионов  $Cu^{2+}$  в вегетативной массе больше, чем в семенах. В ходе исследования показана зависимость между концентрацией  $Cu^{2+}$  в почве и выносом в наземную часть растения при использовании ЦБ *N. linckia*: при увеличении содержания ТМ уменьшается вынос металла растениями ( $r_{II} = -0,7920$ ) (рис. 59). Например, при концентрации ТМ в почве 3 и 300 мг/кг значения следующие:  $-29,0\%$ ;  $-56,6\%$  и  $73,3\%$  к контролю. Обработка семян гороха ЦБ *Fisch. muscicola*, так же и как обработка *N. linckia*, приводит к уменьшению поступления  $Cu^{2+}$  в наземную часть растения по сравнению с контролем. В области низких концентраций:  $-1,1\%$  и  $-9,5\%$  (фон и 3 мг/кг соответственно) [56]. Но высокие дозы ТМ ведут к большему выносу  $Cu^{2+}$  из почвы горохом. Вероятно, это связано с тем, что, встраиваясь в растение, ЦБ являются проводниками для ионов ТМ из почвы [19].

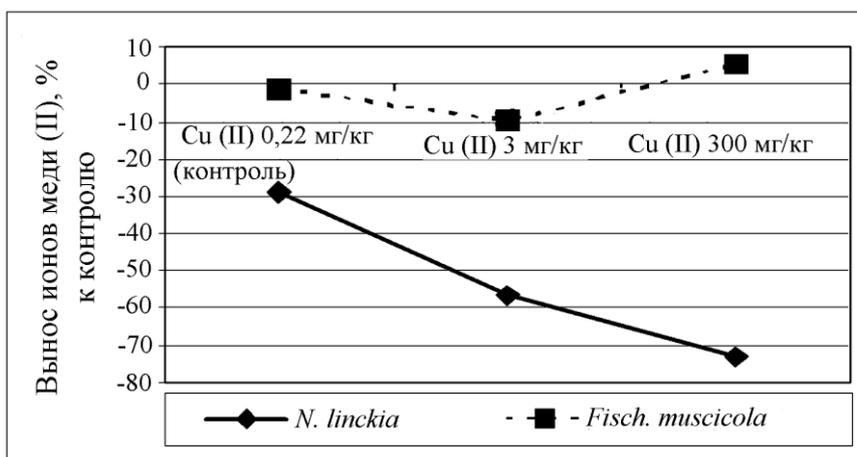


Рис. 59. Содержание ионов меди (II) в надземной части гороха, инокулированного ЦБ, % к контролю

При химическом анализе урожая горчицы установлено, что содержание  $\text{Cu}^{2+}$  в вегетативной массе не превышает значения ПДК почти во всех вариантах, в отличие от семян. Необходимо отметить, что  $\text{Cu}^{2+}$  перераспределяется в наземной части растения неравномерно, особенно концентрируясь в семенах. Определение концентрации ТМ атомно-абсорбционным методом в наземной массе горчицы показало, что повышение концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  в почве приводит к возрастанию извлечения ТМ культурой в вариантах с предпосевной обработкой семян ЦБ (рис. 60). При этом сорбционная активность различных ЦБ разная. Так, при использовании *N. linckia* при 300 мг/кг вынос  $\text{Cu}^{2+}$  растением увеличивается на 24,6% ( $r = 0,8184$ ), а при инокулировании семян *Fisch. muscicola* – на 52,63% ( $r = 0,9705$ ) по сравнению с контролем. Следовательно, в обоих случаях цианобактериальная обработка семян приводит к снижению концентрации ТМ в почве за счет выноса ее растением [56].

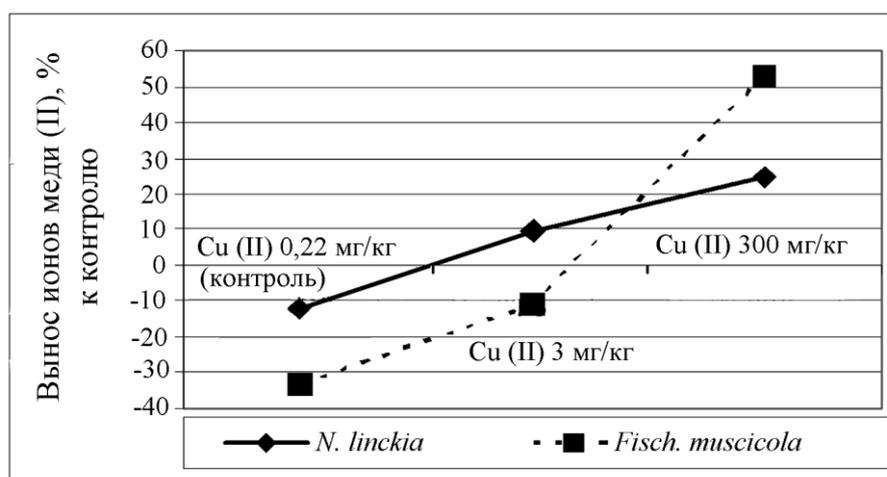


Рис. 60. Содержание ионов меди (II) в надземной части горчицы, инокулированной ЦБ, % к контролю

Однако, исходя из бóльшей сорбционной активности *Fisch. muscicola* и меньшей пищевой ценности горчицы, именно растительно-цианобактериальный комплекс «горчица белая + *Fisch. muscicola*» можно рекомендовать в качестве эффективного биоремедиатора почв, в которых наблюдается высокое содержание меди.

Таким образом, установлено, что содержание  $\text{Cu}^{2+}$  в семенах горчицы и пшеницы выше, чем в их вегетативной массе. В случае гороха наблюдается противоположный эффект – максимальное накопление  $\text{Cu}^{2+}$  зафиксировано в вегетативной массе. Максимальный вынос  $\text{Cu}^{2+}$  из почвы обеспечивает растительно-цианобактериальный комплекс «*Sinapis alba* + *Fisch. muscicola*» как семенами, так и вегетативной массой растения. Следовательно, можно говорить об усилении фиторемедиационных способностей горчицы белой при контакте с ЦБ *Fisch. muscicola*. Таким образом, данный растительно-цианобактериальный комплекс реально использовать для ремедиации почв, загрязненных  $\text{Cu}^{2+}$  [56].

Важное эффективное практическое использование микроорганизмов и растительно-микробных комплексов заключается в реализации возможностей освобождения почвы от фитопатогенов и поллютантов благодаря биологическим особенностям применяемых организмов. При этом исключается опасность сдвига экологического равновесия в почвенных ценозах, которая всегда существует при использовании химических мелиорантов и пестицидов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Материалы, представленные в данной монографии, основанные на анализе литературных источников и собственных исследованиях, убедительно раскрывают перспективы использования микроорганизмов в процессах биомониторинга и очистке ОС от загрязнения.

Так, в процессах биоиндикации почв реальные результаты на присутствие в ней таких токсикантов, как ТМ, пестициды, нефтепродукты, СПАВ, азид натрия, отходы производства фторполимеров, получены с использованием определенных групп фототрофных и гетеротрофных микроорганизмов (МО).

Показано, что под влиянием поллютантов происходит снижение видового разнообразия водорослей и цианобактерий. Меняются количественные характеристики фототрофных популяций: доминирующее место в составе подобных комплексов, как рассеянных в толще почвы, так и развивающихся на поверхности (феномен «цветения»), лидирующие позиции занимают фототрофные прокариоты – цианобактерии (ЦБ). Эффект цианофитизации фототрофных комплексов зарегистрирован в зоне действия промышленных предприятий, при использовании пестицидов в агросистемах, в транспортной зоне городов. При цианофитизации нивелируются сезонные сукцессии, как правило, характеризующиеся сменой доминирующих группировок в почвенных альгоценозах умеренной зоны.

Неоднократно зафиксированная повышенная устойчивость к неблагоприятным экологическим факторам у микромицетов, содержащих меланины, стала основой разработанного метода микоиндикации состояния почв. Доказан эффект меланизации микоценозов при загрязнении почвы поллютантами различного происхождения, что позволяет достаточно быстро проводить биодиагностику исследуемых почвенных образцов и давать ориентировочную оценку их состояния еще до проведения химического анализа.

Использование микромицетов в диагностике состояния почв агроценозов показало, что их реакция на различные сельскохозяйственные воздействия проявляется в изменениях параметров экологической структуры грибных сообществ, изменении видового состава и количественных характеристик (численности пропагул и длины мицелия).

Изменения в структуре комплекса мицелиальных бактерий (актиномицетов) стали основой для биоиндикации городских почв и

почв в зоне действия объекта по хранению и уничтожению химического оружия. Показано, что под влиянием разнообразных поллютантов, накопившихся в почве, меняется относительное обилие и частота встречаемости таких групп актиномицетов, как стрептомицеты и микромонопоры, происходит сокращение или расширение видового и родового разнообразия, формирование состава доминантов, отличного от комплекса актиномицетов незагрязненных почв.

Другой стороной биомониторинга, помимо биоиндикации, является биотестирование с использованием тест-организмов различной организации. В данной монографии акцент сделан на использование в качестве тест-объекта уникальной группы почвенных микрофототрофов – ЦБ.

Впервые к биотестированию с помощью ЦБ применен комплексный подход с использованием разнообразных показателей их физиологической и биохимической активности в авторских методиках. Показано, что чрезвычайно чувствительным показателем на токсичность исследуемой среды является дегидрогеназная активность различных альгологически чистых культур ЦБ с малым титром клеток, которую определяют или тетразолюно-топографическим методом, или спектрофотометрическим. В обоих случаях о жизнеспособности клеток судят по образованию в живых клетках формазана. С результатами данного метода коррелируют такие показатели биохимической активности ЦБ, меняющиеся в присутствии токсикантов, как накопление малонового диальдегида при перекисном окислении липидов, концентрация хлорофилла и феофитина, биохемилюминесценция.

С практическим использованием ЦБ связана и такая их способность, как биосорбция поллютантов, в первую очередь ионов ТМ. В серии опытов показано, что на биосорбционную функцию ЦБ влияют плотность цианобактериальной популяции, степень агрегированности, время контакта с поллютантом, его концентрация. Выявлены оптимальные параметры статуса ЦБ для использования их в качестве биосорбентов.

В результате проведенных исследований было доказано, что большим ремедиационным потенциалом от биологического (фитопатогены) и химического загрязнения обладают такие типичные представители микробиоты, как ЦБ и актиномицеты. Практическим подходом для очистки почвы от загрязнения является внесение этих микроорганизмов в почву путем предпосевной обработки семян.

Последняя глава монографии содержит экспериментальный материал о возможности использования растительно-цианобактериальных и растительно-актиномицетных комплексов в биоремедиации загрязненных почв. В частности, доказано, что растительно-цианобактериальный комплекс горчица белая + *Fischerella muscicola* можно рекомендовать для ремедиации почв с высоким содержанием меди.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абдрахманова Л. Р., Григориади А. С., Бакаева М. Д., Киреева Н. А. Сообщество микроскопических грибов в экотоксикологической оценке фиторемедиации нефтезагрязненных почв // Окружающая среда и менеджмент природных ресурсов : Тезисы докладов 2 Междунар. конф. Тюмень. Тюмень, 2011. С. 143–145.
2. Агаева А. А. Влияние кислотности и растворимого алюминия на развитие штаммов рода *Nocardia*, выделенных из Баилловских нефтезагрязненных почв // Успехи современного естествознания. 2010. № 4. С. 9–12.
3. Алексеева Т. П., Бурмистрова Т. И., Стахина Л. Д., Терещенко Н. Н. Эффективность мелиорантов на основе активированного торфа для восстановления нефтезагрязненных почв // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 2 (22). С. 43–51.
4. Алешкевич Ю. С., Занин Д. Е., Касьянов Г. И., Назарько М. Д. Способы восстановления естественных биоценозов почв // Актуальная биотехнология. № 3 (10). 2014. С. 100–103.
5. Алещенкова З. М., Самсонова А. С., Семочкина Н. Ф. Интенсификация биологической очистки сточных вод производства лавсана микроорганизмами-деструкторами, внесенными в активный ил // Биотехнология. 1997. № 3. С. 48–52.
6. Алещенкова З. М., Самсонова А. С., Семочкина Н. Ф. Влияние микроорганизмов-деструкторов на очистку в активном иле сточных вод производства лавсана // Прикладная биохимия и микробиология. 1999. Т. 35. № 4. С. 448–451.
7. Алиева Э. Н. Биодegradация нефтяных углеводородов грибами, выделенными из прибрежных участков Апшеронского полуострова Каспийского моря // Биология: теория, практика, эксперимент : Сб. материалов междунар. науч. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. Е. В. Сапожниковой. Саратов, 2008. С. 103–105.
8. Алиева Э. Н. Деградирующие свойства активных микроорганизмов выделенных из загрязненных нефтяными углеводородами водных экосистем Апшерона // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2016. № 3. С. 8–12.
9. Анохина Т. О., Кочетков В. В., Зеленкова Н. Ф., Балакшина В. В., Боронин А. М. Биодegradация фенантрена ризосферными плазмидосодержащими бактериями рода *Pseudomonas* в модельных растительно-микробных ассоциациях // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 6. С. 654–658.
10. Антонова О. Ю. Биосорбция тяжелых металлов фототрофными микроорганизмами // Биология – наука XXI века : Материалы X Междунар. конф. молодых ученых. Пушкино, 2006. С. 356.
11. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М. : МГУ, 1970. 488 с.
12. Асанова А. А., Григорьев Ю. С., Полонский В. И., Вишняков А. Н. Оценка токсичности техногенных наночастиц методами биотестирова-

ния // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и молодежной школы. М. : ГЕОС, 2016. С. 318–319.

13. Афанасенко О. С., Левитин М. М., Михайлова Л. А., Колобаев В. А., Гачкаева Т. Ю. Иммунологические основы селекции зерновых культур и картофеля на устойчивость к болезням // Вестник защиты растений. 2000. № 1. С. 3–9.

14. Ашихмин С. П., Жданова О. Б., Мартусевич А. К., Домрачева Л. И. Перспективы применения соединений азота для дезинвазии урбаноземов. Экологическое обоснование и практические вопросы. Киров : Изд-во ООО «Веси», 2013. 62 с.

15. Ашихмина Т. Я., Домрачева Л. И., Кондакова Л. В. Биологические методы анализа в оценке состояния природных и трансформированных экосистем // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и школы. М. : ГЕОС, 2016. С. 6–10.

16. Багаева Т. В., Ионова Н. Э., Надеева Г. В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов. Казань : Казанский университет, 2013. 56 с.

17. Бакулин В. М., Мартинсон Е. А., Мячина Н. С., Бакулин М. К., Тихонов И. В. Использование почвенных глифосатустойчивых изолятов бактерий рода *Pseudomonas* в биотехнологии деградации фосфометилглицина // Вет. Мед. 2012. № 3–4. С. 17–19.

18. Басалаева Л. А., Огородникова С. Ю. Влияние химического загрязнения на синтез антоциановых пигментов растениями ячменя // Экология родного края проблемы и пути их решения : Материалы 4-й обл. науч.-практич. конф. молодежн. Киров, 2009. С. 117–118.

19. Баулина О. И. Ультроструктурная пластичность цианобактерий. М. : Научный мир, 2010. 240 с.

20. Башарова А. Ю., Напалкова Е. Е., Вторушина А. Н. Активный ил в локальных очистных сооружениях биологической очистки хозяйственно-бытовых стоков // Экология и безопасность в техносфере: современные проблемы и пути решения : Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов. 2014. С. 81–83.

21. Бежелева А. В. Сравнительный анализ применимости сорбентов для устранения нефтеразливов на грунте // Молодежь и наука : Сб. материалов VII Всерос. науч.-техн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. Красноярск: Сибирский федеральный ун-т, 2011.

22. Бекасова О. Д., Орлеанский В. К., Никандров В. В. Аккумуляция кадмия и алюминия цианобактерией *Nostoc muscorum* // Микробиология. 1999. Т. 68. С. 851–859.

23. Бекасова О. Д., Бреховских А. А., Москвина М. И. О механизме детоксикации ионов кадмия цианобактерией *Nostoc muscorum* при участии ее внеклеточных полисахаридов // Биофизика. 2002. № 3. С. 515–523.

24. Белимов А. А., Кунакова А. М., Сафронова В. И., Степанок В. В., Юдкин Л. Ю., Алексеев Ю. В., Кожемяков А. П. Использование ассоциативных бактерий для инокуляции ячменя в условиях загрязнения почвы свинцом и кадмием // Микробиология. 2004. Т. 73. № 1. С. 118–125.
25. Белоног Н. И., Гаевский Н. А., Гольд В. М., Борзых М. А., Масягина О. В. Оценка состояния сообщества микроводорослей при действии токсиантов // Коррекция гомеостаза. Материалы 7 Всерос. симп. Красноярск. 1996. С. 58–59.
26. Березин Г. И. Комплексная оценка микробиологического состояния почвы при хроническом и остром действии пестицидов : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Сыктывкар, 2013. 19 с.
27. Березин Г. И. Комплексная оценка воздействия пестицидов разных поколений на микробные комплексы почв // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах. Киров, 2015. С. 54–60.
28. Березин Г. И., Кондакова Л. В., Домрачева Л. И., Дабах Е. В. Особенности микробных группировок почв в районе Кильмезского полигона захоронения ядохимикатов (Кировская область) // Принципы экологии. 2016. Т. 5. № 2. С. 4–17.
29. Биологический мониторинг природно-техногенных систем / Под общ. ред. Т. Я. Ашихминой, Н. М. Алалыкиной. Сыктывкар, 2011. 388 с.
30. Боровой М. В., Добрынин Н. Д., Абеленцев В. И. Видовой состав и биоэкологические особенности патогенных комплексов в агроценозах озимой пшеницы при разных способах обработки почвы // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 4. С. 19–21.
31. Боронин А. М. Микроорганизмы для биоремедиации // Проблемы медицинской и экологической биотехнологии : Материалы юбилейной науч. конф., посвященной 25-летию юбилею ГНЦ ПМ. Оболенск, 1999. С. 23–29.
32. Боронин А. М. Биотехнология ремедиации почв на основе микробно-растительных взаимодействий // Биотехнология: состояние и перспективы : Материалы 1-го междунар. конгресса. М., 2002. С. 138.
33. Брындина Л. В., Минаков К. Л., Корнеева О. С. Сорбционные свойства актиномицетов в очистке сточных вод // Актуальная биотехнология. № 3 (10). 2014. С. 103–104.
34. Буравцев В. Н., Головатый В. Г., Ильинский А. В., Котова Е. А., Головатая Н. Н. Подбор растений для фиторемедиации почв, загрязненной тяжелыми металлами // Научно-технологические технологии в мелиорации : Материалы междунар. науч. конф. (Костяковские чтения). М., 2005. С. 282–285.
35. Бурукаева А. Д., Русанов А. М., Лантух В. П. Роль микроорганизмов в очистке сточных вод от тяжелых металлов. Оренбург, 1999. 53 с.
36. Бурукаева А. Д., Левин Е. В., Сагитов Р. Ф. Использование микромицетов в очистке сточных вод от ароматических аминов и хлорорганических соединений // Автотрофные микроорганизмы : Материалы Всерос. симпозиума с междунар. участием. М. : МАКС Пресс, 2010. С. 44.
37. Бухарин О. В., Лобакова Е. С., Немцева Н. В., Черкасов С. В. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург : УрО РАН, 2007. 264 с.

38. Бушковский А. Л., Кармадонов Л. Н., Бордунов В. В. Способ очистки сточных вод от никеля / Научно-внедренческое предприятие «Эчтех». Томск, 2011. С. 7.
39. Васильева Г. К., Стрижакова Е. Р., Субочева С. А. Сорбционно-биологическая очистка загрязненных почв // Биотехнология: состояние и перспективы развития : Материалы 2 Московского междунар. конгресса. Ч. 2. М., 2003. С. 16.
40. Вершинин А. А., Игнатъев Ю. А. Оценка дыхательной активности выщелоченного чернозема в условиях почвосберегающей технологии возделывания сельскохозяйственных культур // Почвоведение. 2011. № 6. С. 755–759.
41. Винокуров В. А., Василов Р. Г. Использование биодеструкторов для очистки территорий от нефти и нефтепродуктов : Обзор // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю. А. Овчинникова 2013. Т. 9. № 1. С. 51–57.
42. Галямина В. В., Мольков Д. В., Антонова О. Ю., Ковалевская Н. П. Влияние тяжелых металлов на активность процессов азотфиксации и денитрификации несерной пурпурной бактерии *Rhodopseudomonas palustris* // Актуальные проблемы биологии и экологии : Материалы XIV Всерос. молодеж. науч. конф. Сыктывкар, 2007. С. 49–53.
43. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А. И., Кабиров Р. Р. Популяционная альгология. Уфа : Гилем, 2008. 152 с.
44. Галямина В. В. Распространение пурпурных несерных бактерий в перифитоне водотоков разного генезиса, их роль в азотфиксации и денитрификации : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пермь, 2011. 24 с.
45. Галиулин Р. В., Галиулина Р. А. Импактные зоны стойких хлороорганических соединений в окружающей среде // Агрохимия. 2010. № 3. С. 83–89.
46. Гальченко С. В., Мажайский Ю. А. Фитомелиорация как способ детоксикации загрязненных тяжелыми металлами городов // Мелиорация и окружающая среда. М. : Всероссийский НИИ гидротехники и мелиорации, 2004. Т. 2. С. 3–6.
47. Гапочка Л. Д. Популяционные аспекты устойчивости цианобактерий и микроводорослей к токсическому фактору : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1999. 64 с.
48. Гаранин Р. А. Метод биосорбции тяжелых металлов из промышленных сточных вод с использованием пивоваренных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2011. 16 с.
49. Гареева Э. Р., Валиуллин Э. Г. Очистка нефтезагрязненных грунтов с использованием психрофильных микроорганизмов [Электронный ресурс]. URL: <http://conf.sfu-kras.ru/uploads/Gareeva%20E.%20R.%20tezis.docx>.
50. Гоготов И. Н. Аккумуляция ионов металлов и деградация поллютантов микроорганизмами и их консорциумами с водными растениями // Экология промышленного производства. 2005. № 2. С. 33–37.
51. Голлербах М. М., Коссинская Е. К., Полянский В. И. Синезеленые водоросли. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 2. М. : Изд-во «Советская наука», 1953. 652 с.

52. Головлев Е. Л. Экологическая стратегия бактерий // Микробиология. 2001. Т. 70. № 4. С. 437–443.
53. Голтвянский А. В. Биоаккумуляция ионов металлов клетками *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta) // Альгология. 1999. Т. 9. № 2. С. 33.
54. Гончарова И. А., Арашкова А. А., Тригубович А. М., Сосновская Н. Е., Соколова Т. М., Мицкевич А. Г. Связывание ионов тяжелых металлов мицелием плесневых грибов // Современная микология в России. Т. 4 : Материалы 3 Междунар. микологического форума. Вып. 1–3. М., 2015. С. 26–27.
55. Горленко М. В., Сопрунова О. Б., Шадрин О. И., Терехов А. С. Комплексная оценка эффективности ремедиации нефтезагрязненных почв интродуцированным цианобактериальным сообществом // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 17. 2006. № 1. С. 38–44.
56. Горностаева Е. А. Влияние ионов меди и никеля на почвенные цианобактерии и цианобактериальные сообщества : Дис. ... канд. биол. наук. М., 2015. 189 с.
57. Горностаева Е. А., Злобин С. С., Сунцова Е. С., Домрачева Л. И., Ашихмина Т. Я. Микробиологический статус почв в зоне действия КирОВО-Чепецкого химического комбината // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 3. С. 44–49.
58. Горностаева Е. А., Фокина А. И., Кондакова Л. В., Огородникова С. Ю., Домрачева Л. И., Лаптев Д. С., Сланикова Е. М. Потенциал природных биопленок *Nostoc commune* как сорбентов тяжелых металлов в водной среде // Вода: химия и экология. 2013. № 1 (55). С. 93–101.
59. Горностаева Е. А., Фокина А. И., Кондакова Л. В., Злобин С. С., Березин Г. И. Содержание тяжелых металлов и групповой состав фототрофов в природных биопленках *Nostoc commune* как отклик на особенности местообитания // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2011. № 4. С. 167–168.
60. ГОСТ 18376-79 Фторкаучуки СКФ-26 и СКФ-32. Технические условия.
61. ГОСТ 26213-91. Почвы. Методы определения органического вещества. М. : Государственный комитет стандартизации и метрологии СССР, 1991. 8 с.
62. Градова Н. Б., Горнова И. Б., Эддауди Р., Салина Р. Н. Использование бактерий рода *Azotobacter* при биоремедиации нефтезагрязненных почв // Прикладная биохимия и микробиология. 2003. Т. 39. № 3. С. 318–321.
63. Градова Н. Б. Способы биоремедиации нефтезагрязненных почв и грунтов: применимость, эффективность, направления развития // Биотехнология: состояние и перспективы развития : Материалы 4 Московского междунар. конгресса. М., 2007. С. 130.
64. Григорьев Ю. С. Оценка качества водных сред методами биотестирования: решаемые задачи и как улучшить воспроизводимость результатов // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и молодежной школы. М. : ГЕОС, 2016. С. 38–41.
65. Григорьева Н. В. Деструкция цианидов и тиоцианатов ассоциацией гетеротрофных бактерий и ее применение в биотехнологии : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2006. 28 с.

66. Григорьева Е. Н., Смирнова О. Н., Смирнов В. Ф., Кряжев Д. В. Микромицеты почвы полигона твердых бытовых отходов «Игумново» // Микол. и фитопатол. 2015. Т. 49. № 5. С. 286–292.
67. Гузев В. С., Левин С. В. Техногенные изменения сообщества почвенных МО // Перспективы развития почвенной микробиологии. М., 2001. С. 178–219.
68. Дабах Е. В., Домрачева Л. И., Кантор Г. Я., Ашихмина Т. Я. Количественная характеристика альго-микологических комплексов луговых и лесных почв // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2005. № 8 (94). С. 16–18.
69. Дабах Е. В., Кондакова Л. В., Домрачева Л. В., Злобин С. С. Альго-микологическая оценка состояния почв в зоне влияния Кирово-Чепецкого химического комбината // Почвоведение. 2013. № 2. С. 187–194.
70. Данилова А. А. Биологические свойства чернозема выщелоченного при многолетней минимизации механической обработки : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. : МСХА, 2007. 37 с.
71. Делеган Я. А., Ветрова А. А., Чернявская М. И., Филонов А. Е. Физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика термотолерантных бактерий-деструкторов нефти, выделенных из образцов грунта и воды с территории Антарктиды, Казахстана и России // Актуальная биотехнология. 2014. № 3 (10). С. 107–108.
72. Домрачева Л. И. Панкратова Е. М., Перминова Г. Н. Оценка биологического состояния почвы по ее «цветению» // Почвоведение. 1992. № 12. С. 71–80.
73. Домрачева Л. И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар, 2005. 336 с.
74. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В. Мобилизация альгорезервов при антропогенном загрязнении почвы // Альгологические исследования: современное состояние и перспективы на будущее : Материалы I Всерос. науч.-практ. конф. Уфа : Изд-во БГПУ, 2006. С. 128.
75. Домрачева Л. И., Дабах Е. В., Кондакова Л. В., Вараксина А. И. Альго-микологические фитотоксические комплексы при химическом загрязнении почв // Экология и почвы : Лекции и доклады XIII Всероссийской школы. Пушкино, 2006. Т. 5. С. 88–98.
76. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Пегушина О. А., Фокина А. И. Биопленки *Nostoc commune* – особая микробная сфера // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 15–19.
77. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Фокина А. И., Огородникова С. Ю., Кантор Г. Я. Биомониторинг и биотестирование почв // Биоиндикаторы и биотестсистемы в оценке окружающей среды техногенных территорий. Киров : О-Краткое, 2008. С. 68–105.
78. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Попов Л. Б., Зыкова Ю. И. Биоремедиационные возможности почвенных цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. 2009. № 1. С. 8–17.
79. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Огородникова С. Ю., Олькова А. С., Фокина А. И. Применение тетразольно-топографического метода оп-

ределения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязненных средах // Биологический мониторинг природно-техногенных систем. Сыктывкар, 2011. С. 113–120.

80. Домрачева Л. И., Ашихмина Т. Я., Кондакова Л. В., Березин Г. И. Реакция почвенной микробиоты на действие пестицидов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 3. С. 4–18.

81. Домрачева Л. И., Ашихмина Т. Я., Кондакова Л. В., Дабах Е. В., Елькина Т. С. Сравнительный анализ специфики почвенных альго-микологических комплексов в зоне действия объекта хранения и уничтожения химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 73–78.

82. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Зыкова Ю. Н., Ефремова В. А. Альго-циано-микологические комплексы городских почв // Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока. Киров, 2012. С. 282.

83. Домрачева Л., Трефилова Л., Фокина А. Фузарии: биологический контроль, сорбционные возможности. Lap Lambert Academic Publishing. Saarbrucken, Deutschland, 2013. 182 p.

84. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Зыкова Ю. Н., Ефремова В. А. Цианобактерии городских почв // Принципы экологии. 2013. Т. 2. № 4. С. 10–27.

85. Домрачева Л. И., Ашихмина Т. Я., Елькина Т. С., Гайфутдинова А. Р. Микробная деградация промышленных отходов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. № 2. 2014. С. 6–16.

86. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Зыкова Ю. Н., Горностаева Е. А. Микромицеты как компонент природных биопленок *Nostoc commune* // Современная микология в России : Материалы междунар. микологического форума. Т. 4. М., 2015. С. 181.

87. Домрачева Л. И., Трефилова Л. В., Ковина А. Л., Горностаева Е. А., Казакова Д. В., Субботина Е. С. Микробная интродукция и состояние почвенной аборигенной микрофлоры // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 2. С. 55–59.

88. Домрачева Л. И., Горностаева Е. А. Реакция альго-цианобактериальных комплексов на возрастающие концентрации ионов меди в почве под различными сельскохозяйственными культурами // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 1. С. 38–43.

89. Дунайцев И. А., Азбаров Г. И. Технология биодеструкции ядохимикатов и отравляющих веществ в водной и воздушной среде // Вода и экол. Проблемы и решения. 2003. № 3. С. 53–57.

90. Евдокимова Г. А. Эколого-микробиологические основы охраны почв Крайнего Севера. Апатиты : Изд. КНЦ РАН, 1995. 272 с.

91. Евдокимова Г. А. Почвенная микробиота как фактор устойчивости почв к загрязнению // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 2. С. 17–24.

92. Елькина Т. С., Домрачева Л. И., Хитрин С. В., Фукс С. Л., Девятерикова С. В. Определение степени токсичности отходов производства фторполи-

меров по реакции почвенной микрофлоры и цианобактерии *Nostoc paludosum* Kütz // Принципы экологии. 2014. № 1 (9). С. 43–52.

93. Ермаков Е. И., Панова Г. Г., Степанова О. А. Стратегия биоремедиации химически загрязненных экосистем // Экология. 2005. № 3. С. 193–200.

94. Ермакова И. Т., Шушкова Т. В., Старовойтов И. И., Федоров Е. Е., Щербаков А. А., Петрова А. А. Разработка методов фитобиоремедиации почв, загрязненных продуктами детоксикации отравляющих веществ // Поиск и использование новых биомолекул: биоразнообразие, окружающая среда, биомедицина : Тр. Междунар. конф. Пушино, 2004. С. 55–56.

95. Есикова Т. З., Акатова Е. В., Таран С. А. Бактерии-деструкторы низкомолекулярных линейных олигомеров epsilon-капролактама // Прикладная биохимия и микробиология. 2014. Т. 50. № 5. С. 463–470.

96. Ефремова В. А., Кондакова Л. В., Домрачева Л. И., Елькина Т. С. Специфика «цветения» почвы в техногенных зонах города (на примере г. Кирова) // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 2. С. 57–62.

97. Жариков Г. А., Марченко А. И., Крайнова О. А., Киселева Н. И., Дядищева В. П., Медведева Н. Г. Разработка технологии микробной ремедиации почв, загрязненных ипритом // Биотехнология: состояние и перспективы развития : Материалы 3-го Московского междунар. конгресса. Ч. 2. М., 2005. С. 38.

98. Жуйкова Л. И. Обработка сточных вод путем использования биополимеров активного ила : Автореф. дис. ... канд. техн. наук. Щелково, 2007. 29 с.

99. Заборина О. Е., Барышникова Л. М., Баскунов Б. П., Головлев Е. Л., Головлева Л. А. Разложение пентахлорфенола в почве интродуцированным штаммом *Streptomyces rochei* 303 и активированной почвенной микрофлоры // Микробиология. 1997. Т. 66. № 5. С. 661–666.

100. Заварзин Г. А. Избранные труды. М. : МАКС Пресс, 2015. 512 с.

101. Запрометов М. Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения // 56-е Тимирязевское чтение. М. : Наука, 1996. 45 с.

102. Звягинцев Д. Г., Зенова Г. М. Экология актиномицетов. М. : ГЕОС, 2001. 257 с.

103. Зенова Г. М., Звягинцев Д. Г., Широких И. Г. Структура комплексов актиномицетов в рекультивируемых торфяниках // Микробиология. Т. 61. № 2. 1992. С. 323–329.

104. Зенова Г. М., Грачева Т. А., Лихачева А. А. Актиномицеты рода *Micromonospora* в наземных экосистемах // Микробиология. 1994. Т. 63. № 3. С. 553–560.

105. Зыкова Ю. Н. Комплексы водорослей, цианобактерий и грибов городских почв и их реакции на действие поллютантов : Дис. ... канд. биол. наук 03.02.03. Киров, 2013. 160 с.

106. Ильина Н. А., Фуфаева Т. В., Казакова Н. А. Активация почвенных микроорганизмов при загрязнении чернозема выщелоченного химическими отходами на примере фенола // Вестник ТГУ. 2014. Т. 19. Вып. 5. С. 1679–1682.

107. Ильчибакиева Э. У., Автономова А. В., Марченко М. Ю., Сковородко И. В., Барков А. В., Леонтьева М. И., Краснопольская Л. М., Винокуров В. А. Изучение биодеструкции нефти базидиомицетами // Иммунология. Аллергология. Инфектология. 2009. № 2. С. 179.

108. Кабиров Р. Р. Альготестирование и альгоиндикация. Уфа, 1995. 125 с.
109. Калакуцкий Л. В., Шарая Л. С. Актиномицеты и высшие растения // Успехи микробиологии. М. : Наука, 1990. Вып. 2. С. 26–65.
110. Каравайко Г. И., Захарова В. И., Авакян З. А., Стрижко Л. С. Селективное извлечение благородных металлов из растворов микроорганизмами // Прикл. биохим. и микробиол. 1996. Т. 32. № 5. С. 562–566.
111. Карамушка В. И., Грузина Т. Г., Ульберг З. Р. Особенности биосорбции тяжелых металлов из смешанных растворов клетками *Spirulina platensis* // Коллоидный журнал. 1998. Т. 60. № 3. С. 327–330.
112. Кашеева П. Б. Создание новых функциональных материалов для очистки водных сред от нефти и нефтепродуктов : Автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 2014.
113. Ким А. А., Песцов Г. В., Ядгаров Х. Т., Джуманиязова Г. И., Зиновьев П. В., Джураева Г. Т., Абдукаримов А. А., Гинс В. К. Микроорганизмы – деструкторы полихлорированных бифенилов // Прикл. биохимия и микробиол. 2004. Т. 40. № 1. С. 70–73.
114. Ким К. В., Канг С. Ю. Бактериальная биосорбция микроэлементов // Микроэлементы в окружающей среде: биогеохимия, биотехнология и биоремедиация / Под ред. М. Н. В. Прасада и др. М. : ФИЗМАТЛИТ, 2009. С. 381–386.
115. Киреева Н. А., Кузяхметов Г. Г., Водопьянов В. В. Фитотоксичность антропогенно загрязненных почв. Уфа : Гилем, 2003. 266 с.
116. Киреева Н. А., Рафикова Г. Ф., Галимзянова Н. Ф., Логинов О. Н., Кабиров Т. Р. Комплекс микромицетов нефтезагрязненного чернозема выщелоченного при рекультивации биопрепаратом Ленойл // Микол. и фитопатол. 2008. Т. 42. № 1. С. 57–63.
117. Киреева Н. А., Дубовик И. Е., Григориади А. С., Кабиров Т. Р. Оценка фитотоксичности нарушенных почв по показателям альгомикологического комплекса // Агрехимия. 2009. № 11. С. 43–49.
118. Кожевин П. А. «Здоровье» почвы как проблема биотехнологии // Биотехнология: состояние и перспективы развития : Материалы междунар. конгресса. Ч. 2. М., 2007. С. 114.
119. Колесников С. И. Разработка региональных и локальных нормативов содержания химических веществ в почве по биологическим показателям // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и молодежной школы. МГУ. М. : ГЕОС, 2016. С. 120–122.
120. Колесникова И. Я., Воронин Л. В. Изменение количества почвенных грибов под действием различных систем обработки почвы и удобрений // Ярославский педагогический вестник. 2011. № 1. Т. 111 (Естественные науки). С. 114–118.
121. Колупаев А. В., Широких А. А., Широких И. Г. Реакция гриба *Trichoderma viride* на пестицидное загрязнение // Иммунология. Аллергол. Инфектол. 2010. № 1. С. 64.

122. Кондакова Л. В., Домрачева Л. И., Вараксина А. И. Альгомикологические комплексы при химическом загрязнении почвы // Водоросли в техногенных системах : Материалы междунар. конф. Киев: Национ. университет им. Т. Шевченко, 2005. С. 15–17.
123. Кондакова Л. В., Домрачева Л. И. Флора Вятского края. Ч. 2. Водоросли (Видовой состав, специфика водных и почвенных биоценозов). Киров : ОАО «Кировская областная типография, 2007. 192 с.
124. Кондакова Л. В., Домрачева Л. И., Олькова А. С. Влияние пирофосфата натрия на альгоценозы почв Кировской области // Ботан. ж. 2011. Т. 96. № 4. С. 494–503.
125. Кондакова Л. В. Альго-цианобактериальная флора и особенности ее развития в антропогенно нарушенных почвах (на примере почв подзоны южной тайги Европейской части России) : Дис. ... д-ра биол. наук. Сыктывкар, 2012. 356 с.
126. Кондакова Л. В., Домрачева Л. И., Огородникова С. Ю., Олькова А. С., Кудряшов Н. А., Ашихмина Т. Я. Биоиндикационные и биотестовые реакции организмов на действие метилфосфонатов и пирофосфата натрия // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 63–69.
127. Коржов С. И., Маслов В. А., Орехова Е. С. Изменение микробиологической активности почвы при различных способах ее обработки // Агро XXI. 2009. № 1–3. С. 47–49.
128. Корнейкова М. В., Лебедева Е. В. Почвенные микромицеты – биоиндикаторы загрязнений на Кольском полуострове // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и молодежной школы. М. : ГЕОС, 2016. С. 129–133.
129. Корсунова Т. М. Влияние возрастающих доз нефтеполлютантов и мелиоранта на численность и видовой состав микробоценоза каштановой почвы // Земледелие, почвоведение и агрохимия. 2012. № 2 (27). С. 31–31.
130. Коршунова Т. Ю., Мухаматдырова С. Р., Логинов О. Н. Консорциум микроорганизмов, окисляющий нефтяные углеводороды // Вестник Башкирского университета. 2013. № 3. С. 734–735.
131. Коршунова Т. Ю., Логинов О. Н. Опыт применения консорциума микроорганизмов-деструкторов углеводов для обезвреживания нефтеотходов // Современные проблемы науки и образования. Раздел Биологические науки. М.: Издательский Дом «Академия Естествознания», 2014. № 3.
132. Кочетков В. В., Балакшина В. В., Наумов А. В., Грищенков В. Г., Боронин А. М. Выделение и характеристика бактерий-деструкторов пестицидов // Прикладная биохимия и микробиол. 1997. Т. 33. № 3. С. 310–313.
133. Круглов Ю. В., Пароменская Л. Н. Микробиологические факторы биоремедиации почвы, загрязненной гербицидом прометрином // Сельскохозяйственная биология. Сер. Биология растений. 2011. № 3. С. 76–80.
134. Кудряшева Н. С., Кратасюк В. А., Есимбекова Е. Н. Физико-химические основы биолюминесцентного анализа. Красноярск, 2002. 154 с.

135. Кураков А. В., Костина Н. В. Сапротрофные микромицеты ризопланы томатов, огурцов, дерново-подзолистой почвы и их способность подавлять фузариозную инфекцию корней // Почвоведение. 1998. № 2. С. 193–199.

136. Кураков А. В., Звягинцев Д. Г., Филип З. Изменение комплекса гетеротрофных микроорганизмов при загрязнении дерново-подзолистой почвы свинцом // Почвоведение. 2000. № 12. С. 1448–1456.

137. Лебедева Е. Н., Шарапова Н. В., Свиридов О. А., Ревкова Е. Г., Ветеркова З. А., Красиков С. И. Методы защиты человека от воздействия приоритетных поллютантов // Методы защиты человека от воздействия приоритетных поллютантов : учеб.-метод. пособие. Оренбург : Оренб. гос. Ин-т менеджмента, 2011. 141 с.

138. Левин С. В., Гузев В. С., Асеева И. В., Бабьева И. П., Марфенина О. Е., Умаров М. Н. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. М. : Изд-во МГУ, 1989. С. 5–14.

139. Лейкин Ю. А., Черкасова Т. А., Смагина Н. А. Саморегенерирующиеся сорбенты для очистки воды от нефтяных углеводородов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т. 8. Вып. 4. С. 585–599.

140. Логинов О. Н. Новые микробиологические препараты для сельского хозяйства и восстановления окружающей среды : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Кашинцево : Всерос. НИИ биол. пром-сти, 2004. 48 с.

141. Лозовая О. Г., Касаткина Т. П., Подгорский В. С. Поиск биосорбентов тяжелых металлов среди дрожжей различных таксономических групп // Микробиология. 2004. Т. 66. № 2. С. 92–101.

142. Лыонг Т. М. Нечаева И. А., Понаморева О. Н. Изучение эмульгирующих свойств бактерий-деструкторов углеводородов нефти // Актуальная биотехнология. 2014. № 3 (10). С. 108–109.

143. Майсямова Д. Р., Абрамов Н. В. Биологический режим чернозема обыкновенного в процессе сельскохозяйственного использования // Аграрный вестник Урала. 2008. № 5 (47). С. 35–37.

144. Малахова Д. В., Анкудинова А. К., Гарабаджиу А. В., Янкевич М. И. Восстановление городских почв, загрязненных полициклическими ароматическими углеводородами, микробиологическим способом // Биотехнология: состояние и перспективы развития : Материалы 4 междунар. конгресса. М., 2007. С. 135.

145. Мальцева А. Н., Шабаев В. П. Эффективность ростстимулирующих ризосферных бактерий рода *Pseudomonas* при выращивании ячменя в условиях загрязнения свинцом серой лесной почвы // Агрехимия. 2010. № 8. С. 58–65.

146. Марфенина О. Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М. : Медицина для всех, 2005. 196 с.

147. Марьина-Чермных О. Г., Марьин Г. С., Апаева Н. Н., Манишкин С. Г., Петухов А. С., Марьин С. Г. Влияние интенсивного антропогенного воздействия на формирование микромицетных сообществ и фитотоксичность почвы // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2012. № 10 (96). С. 72–77.

148. Масленников П. В., Бородей А. В. Антоцианы как тест на нефтяное загрязнение // Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга : Материалы 11-го Междунар. симпозиума по биоиндикаторам. Сыктывкар, 2001. С. 124–125, 313–313.
149. Мерзаева О. В., Широких И. Г. Колонизация актиномицетами различных родов прикорневой зоны растений // Микробиология. 2006. Т. 75. № 2. С. 271–276.
150. Мерзаева О. В., Широких И. Г. Образование ауксинов эндофитными актинобактериями озимой ржи // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 45. № 1. С. 51–57.
151. Мирчинк Т. Г., Озерская С. М., Марфенина О. Е. Способы выявления типичных для определенных условий комплексов микроскопических грибов на основе характеристики их структуры // Биологические науки. 1982. № 11. С. 61–65.
152. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М. : МГУ, 1988. 205 с.
153. Мотузова Г. В., Безуглова О. С. Экологический мониторинг почв. М. : Академический проект, 2007. 237 с.
154. Мукашева Т. Д., Шигаева М. Х., Сыдыкбекова Р. К., Бержанова Р. Ж. и др. Биоремедиация почв, загрязненных ракетным топливом // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов : Материалы Всерос. симпозиума с междунар. участием. М. : МГУ им. М. В. Ломоносова, М. : МАКС Пресс, 2009. С. 133.
155. Муратова А. Ю., Бондаренко А. Д., Панченко Л. В., Турковская О. В. Использование комплексной фиторемедиации для очистки почвы, загрязненной нефтешламом // Биотехнология. 2010. № 1. С. 77–84.
156. Мязин В. А. Разработка способов повышения эффективности биоремедиации почв Кольского Севера при загрязнении нефтепродуктами (в условиях модельного эксперимента) : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Апатиты, 2014.
157. Назаров А. В., Иларионов С. А. Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации // Биотехнология. 2005. № 5. С. 54–62.
158. Нечаева И. А., Филонов А. Е. Психротрофные микроорганизмы для биоремедиации нефтяных загрязнений в условиях холодного климата // Эко-токсикология – современные биоаналитические системы, методы и технологии : Сб. ст. Росс. школы – конф. молодых ученых. Пущино, 2006. С. 56.
59. Николаев Ю. А., Плакунов В. К. Микробные биопленки: перспективы использования при очистке сточных вод // Вода: химия и экология. 2008. № 2. С. 11–13.
160. Новикова И. И. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 2005. 40 с.

161. Ножевникова А. Н. Биоремедиация загрязненных почв и грунтов // Экология микроорганизмов / Под ред. А. И. Нетрусова. М. : Изд. центр «Академия», 2004. С. 196–199.

162. Обухович Е. М. Создание полевых инфекционных фонов корневых гнилей зерновых культур и усовершенствование методик учета и отбора выносливых форм растений // Пути повышения урожайности полевых культур. Минск, 1987. С. 66–69.

163. Огородникова С. Ю., Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Фокина А. И., Ашихмина Т. Я., Олькова А. С. Защитная роль *Nostoc commune* для семян сельскохозяйственных культур при действии токсикантов (модельные опыты) // Проблемы региональной экологии. 2008. № 2. С. 96–100.

164. Огородникова С. Ю., Зыкова Ю. Н., Березин Г. И., Домрачева Л. И., Калинин А. А. Реакция различных видов цианобактерий рода *Nostoc* на действие токсикантов // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах : Материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. Эмилии Адриановны Штиной. 11–15 октября 2010. Киров : Вятская ГСХА, 2010. С. 216–221.

165. Огородникова С. Ю., Домрачева Л. И., Горностаева Е. А., Фокина А. И. Методические подходы к количественному определению формаза в клетках цианобактерий // Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем : Материалы XI Всерос. науч.-практ. конф. Киров : ООО «Веси», 2013. С. 48–51.

166. Олискевич В. В., Талаловская Н. М., Третьякова С. Э., Барышникова Е. А., Ксенофонтова О. Ю., Гребенщикова В. А., Андрюхина И. Ю., Басова Е. В., Правдивцева М. И., Живайкина Ю. А., Иванова Е. В. Оптимизация технологии биоремедиации сельскохозяйственных земель, загрязненных гербицидом «Гезагард» // Известия Саратовского ун-та. Новая сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13. Вып. 2. С. 101–107.

167. Панкратова Е. М., Домрачева Л. И., Перминова Г. Н., Маркова Г. И., Третьякова А. Н., Коромыслова В. В. Использование фототрофных микроорганизмов в качестве биоиндикаторов на обеспеченность почвы элементами минерального питания // Сельскохозяйственная биология. Серия Биология растений. 1994. № 5. С. 96–103.

168. Панкратова Е. М., Трефилова Л. В. Симбиоз как основа существования цианобактерий в естественных условиях и в конструируемых системах // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 4–14.

169. Пархоменко А. Н., Каширская А. О. Микроорганизмы-деструкторы природных и синтетических полимерных материалов // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов : Материалы Всерос. симпозиума с междунар. участием. М. : МГУ им. М. В. Ломоносова, 24–27 декабря 2009; М. : МАКС Пресс, 2009. С. 146.

170. Патент РФ. 2216525 «Способ микробиологической очистки сточных вод промышленных предприятий от ионов тяжелых металлов: цинка, кадмия и свинца». Авторы: Соловых Г. Н., Ушакова Е. И., Ившина И. Б., Раимова Е. К. Приоритет от 11.03.2002. Зарег. в Госреестре изобр. 20.11.2004 г.

171. Патент на изобретение РФ № 2279325. «Способ получения микробного препарата для утилизации пестицидов, способ утилизации пестицидов (варианты) и устройство для утилизации пестицидов». Авторы: Афанасьев В. Н., Гамова М. В., Гаранькина Н. Г., Круглов Ю. В., Максимов Д. А., Пароменская Л. Н. Приоритет от 06.06.2002. Зарег. в Госреестре изобр. 10.07.2006.

172. Патент на изобретение № 2299181 «Биосорбент для очистки водной поверхности от нефти и нефтепродуктов». Авторы: Козьминых А. Н., Хабибуллина Ф. М., Арчегова И. Б., Ибатуллина И. З., Жучихин Ю. С., Тулянкин Г. М., Таскаев А. И. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/229/2299181.html> (дата обращения 27.07.2015).

173. Патент на изобретение № 2501745 «Способ очистки водного раствора, содержащего соль меди, от ионов меди». Заявка № 2012109029. Приоритет изобретения 11 марта 2012 г. Зарегистрировано в Гос. реестре изобретений РФ 20 декабря 2013 г. (Домрачева Л. И., Зыкова Ю. Н., Горностаева Е. А., Фокина А. И.).

174. Патент на изобретение № 2521653 «Способ очистки водного раствора, содержащего соль никеля, от ионов никеля» (Фокина А. И., Гребенкина О. Н., Жмак М. С., Домрачева Л. И.).

175. Патова Е. Н., Сивков М. Д., Гецен М. В. Аккумуляция металлов почвенной азотфиксирующей водорослью *Nostoc commune* в условиях Восточно-Европейских тундр // Альгология. 2000. Т. 10. № 3. С. 250–256.

176. Пищик В. Н., Воробьев Н. И., Проворов Н. А. Экспериментальное и математическое моделирование популяционной динамики ризосферных бактерий в условиях кадмиевого стресса // Микробиология. 2005. Т. 74. № 6. С. 845–851.

177. Плешакова Е. В. Эколого-функциональные аспекты микробной ремедиации нефтезагрязненных почв : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 2010.

178. Плешакова Е. В., Дубровская Е. В., Турковская О. В. Приемы стимуляции аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры // Биотехнология. 2005. № 1. С. 42–50.

179. Погосян С. И., Маторин Д. Н., Волкова Э. В. и др. Флуоресцентные методы оценки состояния фитопланктона в Черном море // Multidisciplinary investigations of the northeast part of the Black Sea / Eds. F.V. Sapozhnikov. 2002. С. 436.

180. Подгорский В. С., Касаткина Т. П., Лозовая О. Г. Дрожжи – биосорбенты тяжелых металлов // Микробиол. ж. 2004. Т. 66. № 1. С. 91–103.

181. Позднякова Н. Н., Никитина В. Е., Турковская О. В. Биоремедиация нефтезагрязненной почвы комплексом грибов *Pleurotus ostreatus* – почвенная микрофлора // Прикл. биохимия и микробиол. 2008. Т. 44. № 1. С. 69–75.

182. Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М. : КДУ, 2007. 140 с.

183. Помелов А. В., Березин Г. И., Домрачева Л. И. Адаптационные резервы высшего растения и почвенной альгофлоры при действии пестицидов // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 3. С. 87–93.

184. Прохоцкая В. Ю., Артюхова В. И. Особенности формирования структуры лабораторной популяции *Scenedesmus quadricauda* при интоксикации // Гидробиология 2000. Материалы 5-й Всерос. конф. Борок, 2000. С. 68–69.
185. Рафикова Г. Ф., Киреева Н. А., Мрясова А. Б. Комплексы микроскопических грибов в серых лесных и торфяно-глеевых нефтезагрязненных почвах // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века : Материалы Всерос. конф. Ч. 2. Альгология. Микология. Лихенология. Бриология. Петрозаводск, 2008. С. 145–147.
186. Решетов Г. Г., Тугаева Т. А. Выделение из чернозема обыкновенного микроорганизмов-деструкторов пестицида тетраметил-тиурам-дисульфида // Вавиловские чтения – 2012 : Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения академика Н. И. Вавилова. Саратов, 2012. С. 299–301.
187. Ровбель Н. М., Гочарова И. А., Бабицкая В. Г., Соколова Т. В. Томсон А. Э. Биосорбция ионов тяжелых металлов грибами *Alternaria alternate* и *Aspergillus carbonarius* // Микробиология и биотехнология на рубеже 21 столетия : Материалы междунар. конф. Минск, 2000. С. 78–79.
188. Родичева Э. К., Кузнецов А. М., Медведева С. Е. Биоллюминесцентные биотесты на основе светящихся бактерий для экологического мониторинга // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. 2004. № 5. С. 96–100.
189. Ростам Ш., Малеев В.А. Влияние высоких концентраций  $\text{CuSO}_4$  на дыхание *Dunaliella viridis* Teodor // Актуальные проблемы современной альгологии : Материалы IV Междунар. конф. Киев, 2012. С. 54–62.
190. Руденко Е. Ю. Влияние отходов пивоварения на ферментативную активность нефтезагрязненной черноземной почвы // Теоретическая и прикладная экология. № 3. 2011. С. 60–64.
191. Саванина Я. В., Лебедева А. Ф. Использование микроводорослей для определения токсичности ванадия // Альгология. 1999. Т. 9. № 2. С. 129.
192. Саванина Я. В., Лебедева А. Ф., Барский Е. Л. Значение глутатионовой системы в накоплении и детоксикации тяжелых металлов в клетках цианобактерий и микроводорослей // Вестн. МГУ. Сер. 16. 2003. № 3. С. 29–37.
193. Савич В. И. Использование биологических тестов при оценке загрязнения почв и сельскохозяйственной продукции свинцом // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2003. № 1. С. 18.
194. Саксонов М. Н., Балоян А. Э., Таран Д. О., Бархатова О. А. Влияние ряда токсикантов на флуоресценцию хлорофилла клеток водорослей и возможность его ослабления гуматами // Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы : Материалы 4-й Всерос. конф. по водной токсикологии, посвящ. памяти Б. А. Флерова. Борок, 2011. Ч. 1. С. 207–209.
195. Самохвалова В. Л., Фатеев А. И. Тяжелые металлы как фактор техногенного воздействия на почвенные микроорганизмы // Грунтознавство. 2006. Т. 7. № 1–2. С. 88–95.
196. Самсонова А. С. Экология микроорганизмов техногенных территорий // Микробиология и биотехнология на рубеже 21 столетия : Материалы междунар. конф. Минск, 2000. С. 83–85.

197. Самсонова А. С., Алещенкова З. М., Семочкина Н. Ф. Микробный препарат «Родобел» для очистки почвы от нефти // Биотехнология – состояние и перспективы развития : Материалы II Междунар. конгресса. М. : ЗАО «ПИК «Максима», РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2003. Ч. 2. С. 40–41.
198. Свистова И. Д., Бабьева Е. Н. Сукцессии микромицетов в выщелоченном черноземе при чередовании агрофитоценозов // Микология и фитопатология. 1990. Т. 24. Вып. 6. С. 529–535.
199. Сидоров А. В., Морозов Н. В. Аборигенные углеводородоокисляющие микроорганизмы в биоремедиации водных ресурсов от нефтяного загрязнения // Современные наукоемкие технологии. 2007. № 1. С. 63–64.
200. Сизова О. И., Любунь Е. В., Кочетков В. В., Валидов Ш. З., Боронин А. М. Влияние природных и генетически модифицированных ризосферных бактерий *Pseudomonas aureofaciens* на накопление мышьяка растениями // Прикл. биохим. и микробиол. 2004. Т. 40. № 1. С. 78–82.
201. Симакова В. С., Домрачева Л. И., Огородникова С. Ю., Фокина А. И., Ашихмина Т. Я. Влияние фосфорсодержащих автошампуней на развитие почвенных цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 3. С. 89–94.
202. Сиренко Л. А., Козицкая В. Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. Киев : Наукова думка, 1988. 256 с.
203. Сироткина М. С., Сенько О. В., Ефременко Е. И. Деструкция фосфорорганических соединений под действием клеток микроорганизмов при биоремедиации почв // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов : Материалы Всерос. симпозиума с междунар. участием. М. : МАКС Пресс, 2009. С. 170.
204. Скворцова Т. А. Биоремедиация почвы ассоциативными углеводородоокисляющими микроорганизмами // Бюл. ВИУА. 2002. №116. С. 445–447.
205. Скугорева С. Г., Фокина А. И., Домрачева Л. И. Токсичность тяжелых металлов для растений ячменя, почвенной и ризосферной микрофлоры // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 2. С. 32–45.
206. Смирнова Г. Ф. Распространение бактерий, устойчивых к кислородосодержащим ксенобиотикам // Микробиол. журн. 2005. Т. 67. № 5. С. 11–18.
207. Сморгалов И. А. Роль фотогетеротрофных пурпурных бактерий в самоочищении почвы от углеводов : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2008.
208. Соловьёва Е. С., Широких И. Г. Особенности роста изолятов стрептомицетов в присутствии тяжелых металлов // Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде : Материалы Всерос. науч. конф. с международ. участием и школы молодых ученых. Иркутск : Изд-во Института географии им. В. Б. Сочавы СО РАН, 2016. С. 226–227.
209. Сомова Л. А., Печуркин Н. С., Елманова Н. Г., Михеева Г. А. Влияние ассоциаций микроорганизмов на прорастание семян, рост и развитие проростков пшеницы при воздействии солей цинка // Микробное разнообразие: со-

стояние, стратегия сохранения, биотехнологический потенциал : Материалы 2-й междунар. конф. Пермь, 2005. С. 96–97.

210. Сопрунова О. Б., Утепешева А. А., Виет Гиен Нгуен Микроорганизмы – деструкторы ПАВ в водных средах // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2013. № 1. С. 83–90.

211. Сопрунова О. Б., Утепешева А. А. Новые штаммы бактерий-деструкторов ПАВ // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов : Материалы Всерос. симпозиума с междунар. участием. М. : МАКС Пресс, 2014. С. 219.

212. Сорокин Н. Д., Гродницкая И. Д., Евграфова С. Ю., Пашенова Н. В. Биоиндикация и биоремедиация почв нарушенных лесных экосистем Сибири // Материалы 4 съезда о-ва биотехнологов России им. Ю. А. Овчинникова. М., 2006. С. 248–250.

213. Степанок В. В., Юдкин Л. Ю., Рабинович Р. М. Влияние бактериализации семян ассоциативными diaзотрофами на поступление свинца и кадмия в растения ячменя // Агрехимия. 2003. № 5. С. 69–80.

214. Тарчевский В. И. Сигнальные системы клеток растений. М. : Наука, 2002. 294 с.

215. Терехова В. А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М. : Наука, 2007. 215 с.

216. Тихонович И. А., Проворов Н. А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего. СПб. : Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2009. 210 с.

217. Тихонович И. А. Создание высокоэффективных микробно-растительных систем // Сельскохозяйственная биология. Сер. Биология растений 2000. № 1. С. 28–33.

218. Трояновская Е. С., Тихомирова Е. И., Абросимова О. В. Эколого-биологическая характеристика почв, экспериментально загрязненных тяжелыми металлами, в процессе очистки с использованием комбинаций сорбентов // Инновационная деятельность. 2014. № 1 (28). Т. 2. С. 13–20.

219. Туманян А. Ф. Экологические последствия загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами при аварийных ситуациях и способы рекультивации земель // Технологии нефти и газа. 2011. № 3 (74). С. 3–7.

220. Турковская О. В., Муратова А. Ю. Биodeградация органических поллютантов в корневой зоне растений // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. М. : Наука, 2005. С. 180–208.

221. Федосеева Е. В., Терехова В. А., Сапункова Н. Ю., Бондаренко К. С. Изменение ростовых показателей микромицета *Alternaria alternata* под влиянием лигногумата при разном обогащении среды углеводами // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и молодежной школы. М. : ГЕОС, 2016. С. 229–232.

222. Федотов О. В. Фізико-хімічні показники мікологічних об'єктів у біоіндикації довкілля // Пробл. экол. и охраны природы техногенного региона. 2011. № 11. С. 265–274.

223. Филенко О. Ф., Терехова В. А. Экологическое предназначение биотестирования: информативность и универсальность // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Материалы междунар. симпозиума и молодежной школы. М. : ГЕОС, 2016. С. 232–235.

224. Фокина А. И. Влияние свинца на структуру фототрофных микробных комплексов почвы : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Сыктывкар, 2008. 23 с.

225. Фокина А. И., Домрачева Л. И., Широких И. Г., Кондакова Л. В., Огородникова С. Ю. Микробная детоксикация тяжелых металлов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 1. С. 4–10.

226. Фокина А. И., Злобин С. С., Березин Г. И., Зыкова Ю. Н., Огородникова С. Ю., Домрачева Л. И., Ковина А. Л., Горностаева Е. А. Состояние цианобактерии *Nostoc linckia* в условиях загрязнения среды никелем и нефтепродуктами и перспективы ее использования в качестве биосорбента // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 1. С. 69–75.

227. Фокина А. И., Горностаева Е. А., Огородникова С. Ю., Зыкова Ю. Н., Домрачева Л. И., Кондакова Л. В. Адаптационные резервы почвенных природных биопленок с доминированием цианобактерий р. *Phormidium* // Сибирский экологический журнал. 2015. № 6. С. 842–851.

228. Фокина А. И., Домрачева Л. И., Лялина Е. И., Скугорева С. Г., Зыкова Ю. Н., Горностаева Е. А., Олькова А. С. Сопоставление результатов биодиагностики и химического анализа проб урбаноземов // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии : Сб. Междунар. симпозиума и школы. М. : МГУ, 2016. С. 239–241.

229. Фокина А. И., Огородникова С. Ю., Зыкова Ю. Н., Домрачева Л. И., Кудряшов Н. А., Коткина Т. Н., Лялина Е. И. Корректировка условий применения микрокристаллоскопической реакции на дегидрогеназную активность для ее использования в биотестировании // Экология родного края: проблемы и пути их решения : Сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Киров, 2016. С. 139–142.

230. Фокина А. И., Олькова А. С., Скугорева С. Г., Лялина Е. И., Домрачева Л. И., Березин Г. И., Даровских Л. В. Исследование токсичности проб урбаноземов, загрязненных тяжелыми металлами // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2016б. Т. 18. № 2(2). С. 544–550.

231. Фокина А. И., Домрачева Л. И., Зыкова Ю. Н., Скугорева С. Г., Лялина Е. И., Трефилова Л. В. Совершенствование тетразольно-топографического метода биотестирования с использованием цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 1. С. 31–42.

232. Фрейберг И. А., Фуцзюань Э. Н. К вопросу ремедиации почв лесных питомников от пестицидной токсичности с помощью микроорганизмов // Вест-

ник алтайского государственного аграрного университета. 2013. №. 4 (102). С. 41–43.

233. Фунтикова Т. В., Пунтус И. Ф., Аппазов Н. О., Нарманова Р. А., Ветрова А. А., Филонов А. Е. Выделение и характеристика микроорганизмов-нефтедеструкторов, перспективных для биоремедиации почв, загрязненных преимущественно твердыми n-алканами // Актуальная биотехнология. 2014. № 3 (10). С. 114–116.

234. Хабибуллина Ф. М. Почвенная микобиота естественных и антропогенно нарушенных экосистем северо-востока Европейской части России : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Сыктывкар, 2009. 40 с.

235. Хабибуллина Ф. М., Ибатуллина И. З. Трансформация сообщества микромицетов в торфяно-глеевых почвах Крайнего Севера при нефтяном загрязнении // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 3. С. 76–86.

236. Хамова О. Ф., Юшкевич Л. В., Падерина Е. В. Влияние ресурсосберегающих технологий обработки почвы и применения средств интенсификации на микрофлору лугово-черноземной почвы // Вестник Омского государственного аграрного университета. 2011. № 3 (3). С. 26–32.

237. Хидака Х., Садунишвили Т. А., Рамзден Д., Аплаков В. Р., Квеситадзе Г. И. Загрязнение окружающей среды и фиторемедиационные технологии // Annals of Agrarian Science. 2005. V. 3. № 4. P. 9–21.

238. Хижняк Т. В. Бактериальная трансформация и иммобилизация тяжелых металлов и радионуклидов : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2013.

239. Патент на изобретение № 2448054 «Способ очистки кислых сточных вод от сульфатов тяжелых металлов». Заявка № 2010128360/05. Зарегистрировано в Гос. реестре изобретений РФ 2012 г. Авторы: Куценко С. А., Хрулева Ж. В. <https://elibrary.ru/item.asp?id=18452070>.

240. Чубуков В. Ф. Микробы запасают металлы // Химия и жизнь. 1982. № 11. С. 53–55.

241. Чураков Б. П., Зырьянова У. П., Пантелеев С. В., Морозова Н. В. Тяжелые металлы в представителях различных эволюционных групп грибов // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38. Вып. 2. С. 68–77.

242. Шабаев В. П. Поступление свинца в растения из загрязненной тяжелым металлом почвы при инокуляции ростстимулирующими ризосферными бактериями // Известия РАН. Серия биологическая. 2014. № 4. С. 424–432.

243. Шадрина О. И. Циано-бактериальные сообщества в практике рекультивации техногенных экосистем // Тез. докл. 8 съезда Гидробиол. о-ва РАН. Т. 3. Калининград, 2001. С. 89–90.

244. Шашкина П. С., Дедков Ю. М. Оценка сорбционных возможностей речных взвешенных веществ различного генезиса // Электронный журнал «Вестник Московского государственного областного университета». 2010. № 1. С. 91–96.

245. Шелепаев О. Ф., Ковалевская Н. П. Биотехнологический потенциал фототрофных несерных пурпурных бактерий при очистке воды от поливалентных металлов // Актуальные проблемы биологии и экологии : Материалы XVIII Всерос. молодеж. науч. конф. Сыктывкар, 2013.

246. Широких И. Г., Зенова Г. М., Мерзаева О. В., Лапыгина Е. В., Лысак Л. В. Численность и структура актиномицетных комплексов ризосферы озимой ржи, овса и клевера лугового // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2006. № 4. С. 496–501.
247. Широких И. Г., Соловьёва Е. С., Ашихмина Т. Я. Актиномицеты в садово-огородных почвах Кирова // Почвоведение. 2013. № 5. С. 612–618.
248. Широких И. Г., Товстик Е. В., Дабах Е. В., Ашихмина Т. Я. Численность и структура комплексов почвенных актиномицетов в районе возможного влияния химически опасного объекта // Почвоведение. 2013. № 7. С. 860–866.
249. Широких И. Г., Баталова Г. А., Рябова О. В., Русакова И. И. Эффекты интродукции *Streptomyces hygroscopicus* A4 в фитосферу овса // Зерновое хозяйство России. 2013. № 3 (27). С. 52–56.
250. Широких И. Г., Рябова О. В., Харина А. В., Коряковцева Л. А., Широких А. А. Влияние штамма *Streptomyces hygroscopicus* A4 на комплекс микромицетов-патогенов яровой мягкой пшеницы // Микология и фитопатология. 2013. Т. 47. Вып. 6. С. 410–416.
251. Широких И. Г., Соловьёва Е. С., Ашихмина Т. Я. Комплексы актиномицетов в почвах промышленной и селитебной зон Кирова // Почвоведение. 2014. № 2. С. 203–209.
252. Широких И. Г., Соловьёва Е. С., Ашихмина Т. Я. Особенности функциональной структуры комплексов стрептомицетов, выделенных из почв с различным уровнем загрязнения тяжелыми металлами // Сибирский экологический журнал. 2015. № 1. С. 154–162.
253. Шнюкова Е. И. аккумуляция ионов металлов экзополисахаридами *Nostoc linckia* (Roth) Vorn. et Flach. (*Cyanjphyta*) // Альгология. 2005. Т. 15. № 2. С. 172–180.
254. Штина Э. А., Неганова Л. Б., Ельшина Т. А., Шилова И. И., Андропова М. Ф. Особенности почвенной альгофлоры в условиях техногенного загрязнения // Почвоведение. 1985. № 10. С. 97–106.
255. Щербаков А. П., Свистова И. Д. Фитотоксичность чернозема под агрофитоценозами // Докл. РАСХН. 2002. № 6. С. 23–25.
256. Щербакова Л. Ф., Наумов П. В., Серебренников Б. В. Изучение распространения загрязнителей в серых лесных почвах // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Т. 12. № 1 (8). 2010. С. 2166–2168.
257. Юрин В. М. Основы ксенобиологии. Минск : Новое знание, 2002. 267 с.
258. Albarracín V. H., Ávila A. L., Amoroso M. J., Abate C. M. Copper removal ability by *Streptomyces* strains with dissimilar growth patterns and endowed with cupric reductase activity // FEMS Microbiology Letters. 2008. V. 288. P. 141–148.
259. Al-Ghazawi Z., Saadoun I., Al-Shak'ah A. Selection of bacteria and plant seeds for potential use in the remediation of diesel contaminated soils // J. Basic Microbiol. 2005. V. 45. № 4. P. 251–256.
260. Aly M. M., El-Sayed H., El Sayed A., Jastaniah S. D. Synergistic Effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces* sp. Isolated From Saline Soil on

Seed Germination and Growth of Wheat Plant // Journal of American Science. 2012. V. 8(5). P. 667–676.

261. Andreoni V., Gianfreda L. Bioremediation and monitoring of aromatic-polluted habitats // Appl Microbiol Biotechnol. 2007. V. 76(2). P. 287–308.

262. Andrews J. H., Harris R. F. r- and K-selection and microbial ecology // Adv. Microb. Ecol. 1986. V. 9. P. 99–147.

263. Aristilde L., Xu Y., Morel F. M. M. Weak Organic Ligands Enhance Zinc Uptake in Marine Phytoplankton // Environ. Sci. Technol. 2012. V. 46 (10). P. 5438–5445.

264. Arwidsson Z., Johansson E., von Kronhelm T., Allard B., van Hees P. Remediation of metal contaminated soil by organic metabolites from fungi // Water, Air, and Soil Pollution. 2010. V. 205. № 1–4. P. 215–226.

265. Balasubramanian R., Chandrasehar G., Ayyappan S. Utilisation of monochrotophos as a source of phosphorus by bacteria and fungi // J. Ecobiol. 2006. V. 18. № 3. P. 213–217.

266. Basnakova G., Macaskie L. E. Accumulation of zirconium and nickel by *Citrobacter* sp. // J. Chem. Technol. Biotechnol. 1999. V. 74. P. 509–514.

267. Bellanger B. Cyanobacteries: Elles ont failli détriére la vie sur Terre // Sci et vie. 2006. № 1062. P. 78–83.

268. Beveridge T. I., Fyfe W. S. Metal fixation by bacterial cell walls // Can. J. Earth Sci. 1985. V. 22. P. 1893–1898.

269. Bhattachacharya K., Raha S. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage // Mycopathologia. 2002. T. 155. № 3. P. 135–141.

270. Bixian Mai J. Ye., Peng Hui, Huaming Qin, He Baoyan, Zhang Na Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture of *Candida lipolytica* and dewatered sewage sludge // Bioresource Technology. June 2010. V. 101. Issue 11. P. 3893–3902.

271. Canizares-Villanueva R. O., Martinez-Jeronimo F., Espinosa-Chavez F. Acute toxicity to *Daphnia magna* of effluents containing Cd, Zn, and a mixture Cd–Zn, after metal removal by *Chlorella vulgaris* // Environmental toxicology. 2000. V. 15. № 3. P. 160–164.

272. Cho Dae Haeng, Kim Eui Yong Characterization of Pb<sup>2+</sup> biosorption from aqueous solution by *Rhodotorula glutinis* // Bioprocess and Biosyst. Eng. 2003. V. 25. № 5. P. 271–277.

273. Choi S. B., Yun Y. S. Lead biosorption by waste biomass of *Corynebacterium glutamicum* generated from lysine fermentation process // Biotechnol. Lett. 2004. V. 26. № 4. P. 331–336.

274. Christensen B. E. The role of extracellular polysaccharides in biofilms // J. Biotechnol. 1989. V. 10. P. 181–202.

275. Chung W. C., Huang J. W., Huang H. C. Formulation of a soil biofungicide for control of damping-off of Chinese cabbage (*Brassica chinensis*) caused by *Rhizoctonia solani* // Biol. Control. 2005. V. 32. P. 287–294.

276. Dabakh E. V., Kondakova L. V., Domracheva L. I., Zlobin S. S. Algological and Mycological Assessments of the Soil State in the Impact Zone of the Kirovo-Chepetsk Chemical Plant // *Eurasian Soil Science*. 2013. V. 46. № 2. P. 168–175.
277. Das B. K. Occurrence and role of algae and fungi in acid mine drainage environment with special reference to metals and sulfate immobilization // *Water research*. 2009. T. 43. № 4. P. 883–894.
278. Dash H. R., Mangwani N., Chakraborty J., Kumari S., Das S. Marine bacteria // Potential candidates for enhanced bioremediation // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 2013. V. 97. № 2. P. 561–571.
279. De J., Ramaiah N., Mesquita A., Verlekar X. N. Tolerance to various toxicants by marine bacteria highly resistant to mercury // *Mar. Biotechnol.* 2003. V. 5. № 2. P. 185–193.
280. Dimkpa C. O., Merten D., Svatos A., Büchel G., Kothe E. Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores // *Soil Biol Biochem.* 2009. V. 41. P. 154–162.
281. Duffy B. K., Ownley B. H., Weller D. M. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all wheat by *Trichoderma koningi* // *Phytopathology*. 1997. V. 87. № 11. P. 1118–1124.
282. Ekman S., Campbell E.L., Meeks J.C., Flores E. A *Nostoc punctiforme* sugar transporter necessary to establish a cyanobacterium-plant symbiosis // *Plant Physiol.* 2013. V. 161. № 4. P. 1984–1992.
283. Fan Biao, Zhao Yuechun, Mo Ganhui, Ma Weijuan, Wu Junqin Co-remediation of DDT-contaminated soil using white rot fungi and laccase extract from white rot fungi // *J. Soils and Sediments*. 2013. V. 13. № 7. P. 1232–1245.
284. Feng D., Aldrich C. Disorption of heavy metals by biomaterials derived from the marine alga *Ecklonia maxima* // *Hydrometallurgy*. 2004. V. 73. Issues 1–2. P. 1–10.
285. Flemming H. C. Sorption sites in biofilms // *Water Sci. Tech.* 1995. V. 32. P. 27–33.
286. Fogg G. E. Nalewaiko Cr., Watt W. D. Extracellular products of phytoplankton photosynthesis // *Pro. Roy. Soc. Ser. Biol. Sci.* 1965. V. 162. № 989. P. 517–534.
287. Gadd G. M. Metals and microorganisms // *FEMS Microbiol. Lett.* 1992. V. 100. P. 197–204.
288. Gadd G. M. Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2000. V. 11. P. 271–279.
289. Garrett S. D. *Biology of root-infecting fungi*. Cambridge: University Press, 1956. 292 p.
290. Getha K., Vikineswary S. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceus-niger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4: Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process // *J. of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2002. V. 28 (6). P. 303–310.
291. Giridhar B. A., Shea P. J., Oh B. T. *Trichoderma* sp. PDRI-7 promotes *Pinus sylvestris* reforestation of lead-contaminated mine tailing sites // *Sci. Total Environ.* 2014. № 476–477. P. 561–567.

292. Gransee A., Wittenmayer L. Qualitative and quantitative analysis of water-soluble root exudates in relation to plant species and development // *Plant Nutrition and Soil Science*. 2000. V. 163. P. 381–385.
293. Grula J. W. Evolution of photosynthesis and biospheric oxygenation contingent upon nitrogen fixation // *Int. J. Astrobiol.* 2005. V. 4. № 3–4. P. 251–257.
294. Gammersheimer B. S., Giblin T. Identification of lead resistant bacteria from a heavily contaminated site // *Bios.* 2003. V. 74. P. 48–54.
295. Guo J. K., Lin Y. B., Zhao M. L., Ran Sun, Wang T. T., Tang M., Wei G. H. *Streptomyces plumbiresistens* sp. nov., a lead-resistant actinomycete isolated from lead-polluted soil in north-west China // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2009. V. 59. P. 1326–1330.
296. Haferburg G., Groth I, Möllmann U., Kothe E., Sattler I. Arousing sleeping genes: shifts in secondary metabolism of metal tolerant actinobacteria under conditions of heavy metal stress // *Biometals*. 2009. V. 22. P. 225–234.
297. Hamdy A. A. Biosorption of Heavy Metals by Marine Algae // *Current Microbiology*. October 2000. V. 41. Issue 4. P. 232–238.
298. Huang H., Liang J., Wu X., Zhang H., Li Q., Zang Q. Comparison in copper accumulation and physiological responses of *Gracillaria femaneiformis* and *G. lichenoides* (Rhodophyceae) // *Chin. J. Oceanol. and Limnol.* 2013. V. 31. № 4. P. 803–812.
299. Hysek J., Vach M., Zabka M., Javurek M. Biological Protection against Fungal Diseases of Winter Wheat under Different Soil Tillage Technologies // *Journal of agricultural Science and Technology*. 2011. V. 5. № 4 (35). P. 385–392.
300. Iliev I., Petkov G., Lukavsky J. An approach to bioremediation of mineral oil polluted soil // *Genet. and Plant. Physiol.* 2015. V. 5. № 2. P. 162–169.
301. Jaysankar D., Ramaiah N., Bhosle N., Garg A., Varadanyan L., Nagle V., Fukami K. Potential of mercury-resistant marine bacteria for detoxification of chemical of environmental concern // *Microb. and Environ.* 2007. V. 22. № 4. P. 336–345.
302. Jebara S. H., Abdelkerim S., Fatnassi I. C., Chiboub M. Identification of effective PB resistant bacteria isolated from *Lens culinaris* growing in lead contaminated soils // *J. Basic Microbiol.* 2015. V. 55. № 3. P. 346–353.
303. Kang S. Y., Lee J. U., Kim K. W. Selective biosorption of chromium (III) from wastewater by *Pseudomonas aeruginosa* // The 227<sup>th</sup> American Chemical Society National Meeting, Anaheim Division of Environmental Chemistry. 2004. ENVR. P. 91.
304. Kayser G., Koeckritz T., Markert B. Bioremediation zur Reinigung schwermetallbelasteter Böden mit *Thiobacillus* spp. // *Wasser und Böden*. 2001. V. 53. № 1–2. P. 54–58.
305. Kefala M. L., Zouboulis A. I., Matis K. A. Biosorption of cadmium ions by Actinomycetes and separation by flotation // *Environ. Pollut.* 1999. V. 104. № 2. P. 283–293.
306. Kirkwood A. E., Nalewajko C., Fulhorpe R. R. The effects of cyanobacterial exudates on bacterial growth and biodegradation of organic contaminants // *Microbiol. Ecol.* 2006. V. 51. № 1. P. 4–12.

307. Kotrba P., Ruml T. Bioremediation of heavy metal pollution exploiting constituents, metabolites and metabolic pathways of livings // Collect. Czech. Chem. Commun. 2000. V. 65. P. 1205–1247.
308. Kuyucak N., Volesky B. Accumulation of cobalt by marine alga // Biotechnol. Bioeng. 1989. V. 33. P. 809–814.
309. Lafon-Lafourcade, S. Souches de levures // Bull. O.I.V. 1984. V. 637. P. 185.
310. Lan S., Zhang Q., Wu L., Liu Y., Zhang D., Hu C. Cyanobacterial inoculation facilitates the succession of vegetation communities // Environ. Sci. and Technol. 2014. V. 48. № 1. P. 307–315.
311. Larkin R. P., Fravel D. R. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato // Plant Dis. 1998. V. 82. № 9. P. 1022–1028.
312. Lebeau T., Bagot D., Jézéquel K., Fabre B. Cadmium biosorption by free and immobilised microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: effects of Cd, pH and techniques of culture // Science of The Total Environment. 2002. V. 291. Issues 1–3. P. 73–83.
313. Ledin M., Krantz-Rulcker C., Allard B. Microorganisms as metal sorbents. Comparison with other soil constituents in multi-compartment systems // Soil Biol. and Biochem. 1999. V. 31. № 12. P. 1639–1648.
314. Leland H. V., Luoma S. N., Fielden J. M. Bioaccumulation and toxicity of heavy metals and related trace elements // Journal Water Pollution Control Federation. 1979. P. 1592–1616.
315. Li H., Lin Y., Guan W, Chang J., Xu L., Guo J., Wei G. Biosorption of Zn(II) by live and dead cells of *Streptomyces ciscaucasicus* strain CCNWHX 72-14 // Journal of Hazardous Materials. 2010. V. 179. P. 151–159.
316. Lin Y. B., Wang X. Y., Li H. F., Wang N. N., Wang H. X., Tang M., Wei G. H. *Streptomyces zinciresistens* sp. nov., a zinc-resistant actinomycete isolated from soil from a copper and zinc mine // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2011. V. 61. P. 616–620.
317. Loaec M., Olier R., Guezennec J. G. Uptake of lead, cadmium and zinc by a novel bacterial exopolysaccharide // Water Res. 1997. V. 31. P. 1171–1179.
318. Maloney S.E. Degradation of insecticides and herbicides by Fungi // J. Chem. Technol. and Biotechnol. 1998. V. 71. № 4. P. 360–362.
319. Marqués R. X., Simon-Pujol D. M., Fuste M. C., Congregado F. Uranium accumulation by *Pseudomonas* sp. EPS-5028 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1991. V. 35. P. 406–410.
320. Mercadier C., Vega D., Bastide J. Iprodione degradation by isolated soil microorganisms // Fems Microbiol. Ecol. 1997. V. 23. 3. P. 207–215.
321. Moore B. G. Tischer R. G. Biosynthesis of extra cellular polysaccharides by the blue-green alga *Anabaena flos-aquae* // Cfn. J. Microbiol. 1965. V. 11. № 6. P. 877–885.
322. Moore B. A., Duncan J. R., Burgess J. E. Fungal bioaccumulation of copper, nickel, gold and platinum // Minerals Engineering. 2008. Vol. 21. Issue 1. P. 55–60.

323. Morin S., Duong T.T., Boutry S., Coste M. Modulation de la toxicité des métaux vis-à-vis développement des biofilms de cours d'eau (basin versant de Decazeville, France) // *Cryptogamie. Algol.* 2008. V. 29. № 3. P. 201–216.
324. Newton J. A., Fray R. G. Integration of environmental and host-derived signals with quorum sensing during plant-microbe interactions // *Cell. Microbiol.* 2004. V. 6. № 3. P. 213–224.
325. Nimnoi P., Pongsilp N., Lumyong S. Endophytic actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production // *World J. Microbiol Biotechnol.* 2010. V. 26. P. 193–203.
326. Nourbakhsh M. N. Biosorption of  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  ions in industrial waste water on *Bacillus* sp. // *Chem. Eng. J.* V. 85. 2002. P. 351–355.
327. Paperi R., Michaletti E., Phillipis R. Optimization of copper sorbing-desorbing cycles with confined cultures of the exopolysaccharide-producing cyanobacterium *Cyanospira capsulate* // *J. Appl. Microbiol.* 2006. V. 101. № 6. P. 1351–1356.
328. Parikh A., Shah V., Madamwar D. Cyanobacterial flora from polluted industrial effluents // *Environ. Monit. and Assess.* 2006. V. 116. № 1–3. P. 91–102.
329. Parker D. L., Michalick J. E., Plude J. L., Plude M. J., Clark T. P., Egan L., Flom J. J., Rau L. C., Kumar H. D. Sorption of metals by extracellular polymers from the cyanobacterium *Mycrocystis aeruginosa* f. *flos-aquae* strain C3-40 // *J. Appl. Phycol.* 2000. V. 12. № 3–5. P. 219–224.
330. Podgorskiĭ V. S., Kasatkina T. P., Lozovaia O. G. Yeast – biosorbents of heavy metals // *Mikrobiologichnyi zhurnal (Kiev, Ukraine: 1993).* 2003. T. 66. № 1. C. 91–103.
331. Ponneelan K. T. P. B., Subramanian C., Suchitra R., Ganesh K. G. Studies on the pesticide (Lindane) utilizing in the paddy field // *J. Ecotoxicol. and Environ. Monit.* 2006. № 3. V. 16. P. 211–214.
332. Quigg A., Chin W. C., Chen C. S., Zhang S., Jiang Y., Miao A. J., Schwehr K. A., Xu C., Santschi P. H. Direct and Indirect Toxic Effects of Engineered Nanoparticles on Algae: Role of Natural Organic Matter // *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2013. V. 1 (7). P. 686–702.
333. Quintelas C., Tavares T. Lead(II) and Iron(II) removal from aqueous solution: Biosorption by a bacterial biofilm // *Resour. and Environ. Biotechnol.* 2002. V. 3. № 4. P. 193–202.
334. Raize O., Argaman Y., Yannai S. Mechanisms of biosorption of different heavy metals by brown marine macroalgae // *Biotechnol. and Bioeng.* 2004. V. 87. № 4. P. 451–458.
335. Rao C. R. N., Lyengar L., Venkobachar C. Sorption of copper(II) from aqueous phase by waste biomass // *J. Environ. Eng.* 1993. V. 119. P. 369–377.
336. Robinson N. J., Whitehall S. K., Cavet J. S. Microbial metallothioneins // *Adv. Microbiol. Physiol.* 2001. V. 44. P. 173–213.
337. Romera E., González F., Ballester A., Blázquez M. L., Muñoz J. A. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae // *Bioresource Technology.* December 2007. V. 98. Issue 17. P. 3344–3353.

338. Saison C., Perreault F., Daigle J.-C., Fortin C., Claverie J., Morin M., Popovic R. Effects of-shell copper oxide nanoparticles on cell culture morphology and photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // *Aquat. Toxicol.* 2010. V. 96. № 2. P. 109–114.
339. Sánchez O., Diestra E., Esteve I., Mas J. Molecular characterization of an oil-degrading cyanobacterial consortium // *Microbial. Ecol.* 2005. V. 50. № 4. P. 580–588.
340. Saygideger S. Bioaccumulation and toxicity of zinc in *Spirogyra fluviatilis* Hilse (Chlorophyta) // *Water, Air and Soil Pollut.* 1998. V. 101. № 1–4. P. 323–331.
341. Scanlan D. Cyanobacteria: Ecology, niche adaptation and genomics // *Microbiol. today.* 2001. V. 28. № 3. P. 128–130.
342. Schmidt A., Haferburg G., Sineriz M., Merten D., Büchel G., Kothe E. Heavy metal resistance mechanisms in actinobacteria for survival in AMD contaminated soils. *Chem Erde-Geochem.* 2005. V. 65. P. 131–144.
343. Schmidt A., Hagen M., Schütze E., Schmidt A., Kothe E. In silico prediction of potential metallothioneins and metallothiostins in actinobacteria // *J. Basic Microbiol.* 2010. V. 50. P. 562–569.
344. Schrey S. D., Salo V., Raudaskoski M., Hampp R., Nehls U., Tarkka M. T. Interaction with mycorrhiza helper bacterium *Streptomyces* sp. AcH 505 modifies organisation of actin cytoskeleton in the ectomycorrhizal fungus *Amanita muscaria* (fly agaric) // *Curr Genet.* 2007. V. 52. P. 77–85.
345. Schütze E., Kothe E. Heavy Metal-Resistant Streptomyces in Soil // *Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils* // *Soil Biology.* 2012. V. 31. P. 163–182.
346. Shanmuganathan K., Yasin J., Jayaprakasam M. Antibiotics in agriculture // *Agric. Today.* 2001. V. 6. P. 40–41.
347. Shapir N., Mandelbaum T., Atrazine degradation in subsurface soil by indigenous and introduced microorganisms // *J. Agr. and Food Chem.* 1997. V. 45. № 11. P. 4481–4486.
348. Shashirekha S., Uma L., Subramanian G. Phenol degradation by marine cyanobacterium *Phormidium valderianum* BDU 30501 // *J. Ind. Microbial. Biotechnol.* 1997. V. 19(2). P. 130–133.
349. Sheshgova T., Kedrova L. Methods of winter rye breeding for a resistance against *Fusarium infection* // *Proceedings of EUCARPIA symposium Rye breeding & Genetics. IHAP-Radzиков. Poland, 2001.* P. 267–269.
350. Shroff K. A., Vaidya V. K. Effect of pretreatments on biosorption of Ni(II) by dead biomass of *Mucor hiemalis* // *Eng. Life Sci.* 2011. V. 11. № 6. P. 588–597.
351. Silabarasan S., Abraham J. Ecofriendly method for bioremediation of chlorpyrifos from agricultural soil by novel fungus *Aspergillus terreus* JASI // *Water, Air and Soil Pollut.* 2013. V. 224. № 1. P. 1369/1–1369/11.
352. Singh A. K., Rai B. Effect of cement dust treatment on some phylloplane fungi of wheat // *Water, Air, and Soil Pollution.* 1990. T. 49. № 3–4. P. 349–354.

353. Slaba M., Dlugonski J. Selective recovery of  $Zn^{2+}$  from waste slag from a metal-processing plant by the microscopic fungus *Verticillium marquandii* // Biotechnol. Lett. 2000. V. 22. № 21. P. 1699–1704.

354. Slaveykova V. I., Wilkinson K. J. Physicochemical aspects of lead bioaccumulation by *Chlorella vulgaris* // Environmental science & technology. 2002. T. 36. № 5. P. 969–975.

355. Sousa J. P., Rodrigues J. M. L., Loureiro S., Soares A. M. V. M., Jones S. E., Forster B., van Gestel C. A. M. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) – an instrument for testing potentially harmful substances: effects of carbendazim on soil microbial parameters // Ecotoxicology. 2004. V. 13. № 1. P. 43–60.

356. Srividya S., Thapa A., Bhat D. V., Golmei K., Dey N. *Streptomyces* sp. as effective biocontrol against chilli soilborne fungal phytopathogens // Euro. J. Exp. Bio. 2012. № 2 (1). P. 163–173.

357. Stackerbramt E., Woese C. R. Towards a phylogeny of actinomycetes and related organisms // Curr. Microbiol. 1981. V. 5. № 4. P. 197–202.

358. Sterritt R., Lester J. Interaction off heavy metals with bacteria // The science of the Total Environment. 1980. V. 14. P. 5–17.

359. Strohl W. R. Antimicrobials // In: Bull A.T. (Ed.), Microbial Diversity and Bioprocessing. American Society for Microbiology, Washington DC. 2004. P. 336–355.

360. Struthers J. K., Jayachandran K., Moorman T. B. Biodegradatoin of atrazine of *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil // Appl. and Environ. Microbiol. 1998. V. 64. № 9. P. 3368–3375.

361. Sturz A. V., Carter M. R., Johnston H. W. A review of plant disease, pathogen interactions and microbial antagonism under conservation tillage in temperate humid agriculture // Soil and Tillage research. 1997. V. 41. № 3. P. 169–189.

362. Subashandrabose S. R., Ramakrishnan B., Megharal M., Venkateswaru K., Naidu R. Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation // Environ. Int. 2013. V. 51. P. 59–72.

363. Sysuev V. A., Shirokikh I. G., Merzaeva O. V. Biological efficiency of *Streptomyces hygroscopicus* A-4 against phytopathogenic fungus *Fusarium avenaceum* 7/2 in the rhizosphere // Journal of Fungal Research. 2008. V. 6. № 2. P. 83–87.

364. Szomolay B., Klapper I., Dockery J., Stewart P.S. Adaptive responses to antimicrobial agents in biofilms // Environ Microbiol. 2005. V. 7. № 8. P. 1186–1191.

365. Taechowisan T., Lumyong S. Activity of endophytic actinomycetes from roots of *Zingiber officinale* and *Alpinia galanga* against phytopathogenic fungi // Ann Microbiol. 2003. V. 53. P. 291–298.

366. Tambong J. T., Barasubiye T., Gregorch E. G., McLaughlin N. B., Levesque C. A. A molecular study on the effect of soil compaction on the ecology of *Pythium* communities // Proc. of Symp. on Crop Protection. Gent. Belgium. 2005. P. 3.

367. Tang J.-X., Hoagland K. D., Siegfried B. D. Different toxicity of atrazine to selected freshwater algae // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 1997. V. 59. № 4. P. 631–637.

368. Tank N., Saraf M. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR // *J. Basic Microbiol.* 2009. V. 49. № 2. P. 195–204.
369. Tarkka M., Hampp R. Secondary Metabolites of Soil Streptomyces in Biotic Interactions // In: Karlovsky P. (Ed.). *Secondary Metabolites in Soil Ecology. Soil Biology 14.* Berlin – Heidelberg: Springer-Verlag. 2008. P. 107–126.
370. Taylor C. E., Muscatine L., Jefferson D. R. Maintenance and breakdown of the Hydra-Chlorella symbiosis: a computer model // *Proceedings of the Royal Society of London. B. Biological Sciences.* 1989. T. 238. № 1292. P. 277–289.
371. Thompson S. L., Manning F. C. R., Mc Coll S. M. Comparison of the toxicity of chromium III and chromium VI to cyanobacteria // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol (KÝ).* 2002. V. 69. № 2. P. 286–293.
372. Tian J., Yuan J. Changes in ultrastructure and antioxidant system of alga (*Dunaliella salina*) during accumulation to enhanced ultraviolet-B radiation // *Photochem. and Photobiol.* 2009. V. 97. № 3. P. 152–160.
373. Tobin J. M., Cooper D. G., Neufeld R. J. Uptake of Metal Ions by *Rhizopus arrhizus* // *Biomass, Appl. Environ. Microbiol.* 1984. V. 47. № 4. P. 821–824.
374. Tokala R. K., Strap J. L., Jung C. M., Crawford D. L., Salove M. H., Deobald L. A., Bailey J. F., Morra M. J. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*) // *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68. P. 2161–2171.
375. Tomioka N., Uchiyama H., Yagi O. Cesium accumulation and growth characteristics of *Rhodococcus erythropolis* CS98 and *Rhodococcus* sp. strain CS402 // *Appl. Env. Microbiol.* 1994. V. 14. № 2. P. 283–290.
376. Tomitani A., Knoll A., Cavanaugh H. Molecular-phylogenetic and paleontological perspective // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2006. V. 103. № 14. P. 5442–5447.
377. Torres M., Goldberg J., Jensen T. E. Heavy metal uptake by polyphosphate bodies in living and killed cells of *Plectonema boryanum* (Cyanophyceae) // *Microbios.* 1998. V. 96. № 385. 141–147.
378. Tripathi V. N., Strivastova S. Ni<sup>2+</sup>-uptake in *Pseudomonas putida* strain S4: A possible role of Mg<sup>2+</sup>-uptake pump // *J. Biosci.* 2006. V. 31. № 1. P. 61–67.
379. Tsezos M., Volesky B. Biosorption of uranium and thorium // *Biotechnol. Bioeng.* 1981. V. 23. P. 583–604.
380. Vails M., de Lorenzo V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution // *FEMS Microbiol. Rev.* 2002. V. 26. P. 327–338.
381. Veglio F., Beolchini F. Removal of metals by sorption: a review // *Hydrometallurgy.* 1997. V. 44. P. 301–316.
382. Vermaa M., Brara S. K., Tyagia R. D., Surampallib R. Y. Valéroa J. R. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control // *Biochemical Engineering Journal.* 2007. V. 37. Is. 1. P. 1–20
383. Vinale F., Abadi K., Ruocco M., Marra R., Scala F., Zoina A., Lorito M. Remediation of pollution by using biological systems based on beneficial plant-microorganisms interactions // *J. Plant Pathol.* 2003. V. 85. № 4. P. 301–308.

384. Volesky B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century // *Hydrometallurgy*. 2001. V. 59. P. 203–216.
385. Volesky B., May-Phillips H. A. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1995. T. 42. №. 5. C. 797–806.
386. Weiner R., Kovach J., Chang E., Walch M. Influence of microbial biofilms on the cycling and impact of heavy metals // 37<sup>th</sup> Conf. Int. Assoc. Great Lakes Res. and Estuarine Res. Fed., Windsor. 1994. P. 99.
387. Weller D. M., Landa B. B., Mavrodi O. V., Schroeder K. L., De La Fuente L., Blouin Bankhead S., Allende Molar R., Bonsall R. F., Mavrodi D. V., Thomashow L. S. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots // *Plant Biol. (Stuttg)*. 2007. V. 9(1). P. 4–20.
388. Weller D. M. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years // *Phytopathology*. 2007. V. 97. P. 250–256.
389. White C., Wilkinson S. C., Gadd G.M. The role of microorganisms in biosorption of toxic metals and radionuclides // *Int. Biodeterior. Biodegr.* 1995. V. 35. P. 17.
390. Xiao K., Kinkel L. L., Samac D. A. Biological control of Phytophthora root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces* // *Biol. Control*. 2002. V. 23. P. 285–295.
391. Xu J., Qui X., Dai J., Cao H., Yang M., Zhang J., Xu M. Isolation and characterization of a *Pseudomonas oleovorans* degrading the chloroacetamide herbicide acetochlor // *Biodegradation*. 2006. V. 17. № 3. P. 219–225.
392. Yandigeri M. S., Meena K. K., Singh D., Malviya N., Singh D. P., Solanki M. K., Yadav A. K., Arora D. K. Drought-tolerant endophytic actinobacteria promote growth of wheat (*Triticum aestivum*) under water stress conditions // *Plant Growth Regul.* 2012. Electronic supplementary material DOI10.1007/s10725-012-9730-2.
393. Yilmazer P., Saracoglu N. Bioaccumulation and biosorption of copper(II) and chromium(III) from aqueous solutions by *Pichia stipitis* yeast // *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2009. V. 84. Issue 4. P. 604–610.
394. Zhou Guang-Cu, Peng Fu-Qiang, Zhang Li-Juan, Ying Guang-Guo Biosorption of zinc and copper from aqueous solutions by two freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* // *Environ. Sci. and Pollut. Res.* 2012. V. 19. № 7. P. 2918–2929.
395. Zinniel D. K., Lambrecht P., Harris N. B., Feng Z., Kuczmariski D., Higley P., Ishimaru C. A., Arunakumari A., Barletta R. G., Vidaver A. K. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants // *Appl Environ Microbiol.* 2002. V. 68. P. 2198–2208.
396. Zouboulis A. I., Loukidou M. X., Matis K. A. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils // *Process Biochemistry*. 2004. V. 39. Issue 8. P. 909–916.



Научное издание

**МИКРООРГАНИЗМЫ КАК АГЕНТЫ БИОМОНИТОРИНГА  
И БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

Корректор *Ю. Н. Болдырева*  
Компьютерная верстка *К. А. Ашихминой*

Подписано в печать 30.08.2018 г.  
Дата выхода в свет 31.10.2018 г.  
Формат 60×84/16.  
Печать цифровая.  
Бумага для офисной техники.  
Усл. печ. л. 14,76.  
Тираж 300 экз.  
Заказ № 5361.

Научное издательство Вятского государственного университета  
610000, г. Киров, ул. Московская, 36  
[www.vestnik43.ru](http://www.vestnik43.ru), [www.vyatsu.ru](http://www.vyatsu.ru)  
Тел. 20-89-64

Отпечатано в центре полиграфических услуг  
Вятского государственного университета,  
610000, г. Киров, ул. Московская, 36