

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВЯТСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»



## **Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах**

**Киров 2020**

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВЯТСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

## **Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах**

**Материалы III Всероссийской  
научно-практической конференции с международным участием,  
посвященной 110-летию со дня рождения профессора  
Эмилии Адриановны Штиной**

**26-30 октября 2020 г.**

**Киров 2020**

УДК 582.26;631.466  
ББК 40.325  
В62

Главный редактор – ректор Вятской ГСХА, доктор педагогических наук  
Е.С. Симбирских  
Зам. главн. ред. – проректор по НИР Вятской ГСХА, доктор технических наук  
Р.Ф. Курбанов  
Отв. за выпуск – заведующий кафедрой биологии растений, селекции и  
семеноводства, микробиологии, кандидат биологических наук  
Ю.Н. Зыкова

Редакционная коллегия:

Л.И. Домрачева, доктор биологических наук, профессор;  
А.Л. Ковина, кандидат биологических наук, доцент;  
А.А. Калинин, кандидат биологических наук, доцент;  
Л.В. Трефилова, кандидат биологических наук, доцент.

**В 62 Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах:** Материалы III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения профессора Эмилии Адриановны Штиной, 26-30 октября 2020 г.– Киров: Вятская ГСХА, 2020.– 152 с.

В сборнике помещены статьи участников конференции. Опубликованные работы охватывают широкий круг вопросов, связанных с изучением систематики, экологии, физиологии, генетики, метаболизма водорослей и цианобактерий, их взаимоотношений с другими организмами, а также их практического использования.

Материалы конференции издаются в авторской редакции. За ошибки и неточности, допущенные авторами в статьях, редакционная коллегия ответственности не несет.

УДК 582.26;631.466  
ББК 40.325

## Содержание

Домрачева Л.И. Эмилия Адриановна Штина – великий российский альголог	5
Домрачева Л.И. Перспективное использование поверхностной микробиоты растений в агробиотехнологии	8
Домрачева Л.И. Роль кировских ученых в изучении педобиоты	12
Бачура Ю.М., Горбатенко А.А., Новикова А.А. О влиянии культур микроводорослей и цианобактерий на рост и развитие некоторых высших растений	23
Бурцева С.А., Бырса М.Н., Березюк Ю.Н., Васильчук А.В., Чеботарь В.И., Рудик В.Ф. Влияние метаболитов <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> CNM-СВ-02 на образование биомассы и её липидный состав у стрептомицетов	27
Гольдин Е.Б. Основные пути взаимоотношений между цианобактериями и птицами	32
Дорохова М.Ф. Влияние нефти на почвенные водоросли и цианобактерии: вклад кировской школы альгологов	36
Емелев С.А. Влияние биопрепаратов на полевую всхожесть и урожайность ярового ячменя сортов Белгородский 100 и Нур	42
Зыкова Ю.Н., Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Влияние предпосевной бактериализации семян на рост и развитие <i>Medicago sativa</i>	47
Изотова В.А. Опыт применения биоагентов для инокуляции семян	52
Калинин А.А. Подавление фузариозных поражений под влиянием микробов - антагонистов	56
Коваль Е.В., Огородникова С.Ю. Влияние <i>Nostoc muscorum</i> и лигногумата на биохимические показатели и рост ячменя	60
Козылбаева Д.В. Использование регуляторов роста при выращивании рассады декоративных растений	63
Кондакова Л.В., Домрачева Л.И. Специфика цианобактериальных комплексов при различных видах загрязнения почвы	68
Кувичкина Т.Н., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Решетиллов А.Н. Микроорганизмы из природных экосистем. Возможность их биотехнологического использования	73
Кутявина Т.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я. Распределение доминирующих видов водорослей и цианобактерий на акватории Омутнинского водохранилища	78
Мальцев Е.И., Мальцева С.Ю., Куликовский М.С. Биотехнологический потенциал штаммов <i>Coccoloba</i> (Trebouxiophyceae, Chlorophyta),	

перспективных продуцентов жирных кислот	81
Огородникова С.Ю., Коваль Е.В., Пестов С.В., Зиновьев В.В., Герасимова М.Р. Пигментный комплекс как индикатор состояния фототрофных организмов	84
Олькова А.С. Биотестирование почвенных образцов: основные правила и проблемы	87
Патова Е.Н., Новаковская И.В. Цианобактерии и эукариотные водоросли в наземных экосистемах Полярного, Приполярного и Северного Урала	90
Петрухина Д.И. Производство природного астаксантина	93
Рачеева Н.Э., Трефилова Л.В. Перспективы использования цианобактерий в лесовозобновлении	96
Садогурская С.А., Белич Т.В., Садогурский С.Е. К изучению Cyanobacteria каменистой супралиторали полуострова Меганом (Чёрное море)	101
Сапожников Ф.В., Калинина О.Ю., Ильина О.В., Колобов М.Ю., Ильинский В.В. Сообщества фитоплактона оз. Байкал: характерные черты и особенности	105
Симакова В.С. Оценка токсичности жидкости для снятия лака с помощью <i>Lepidium sativum</i> L.	111
Скугорева С.Г., Домрачева Л.И., Кантор Г.Я., Фокина А.И. Сорбционная активность биоплёнок цианобактерий по отношению к ионам меди(II)	116
Трифонов Р.Н., Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В. Влияние растительности на педобиоту урбаноземов	121
Тупикова Г.С., Егорова И.Н., Шергина О.В. Водоросли в дерново-карбонатных антропогенно-нарушенных почвах Прибайкалья	127
Фокина А.И., Загоскин М.А., Огородникова С.Ю., Благодатских Я.Ю. Влияние грибов рода <i>Fusarium</i> и их антагонистов на интенсивность перекисного окисления липидов в листьях Melissa	130
Цуркан О.П. Синтез сульфатированных экзополисахаридов при культивировании цианобактерии <i>Spirulina platensis</i> в присутствии координационных соединений Cu (II)	132
Черемисинов М.В., Нанкина Н.В. Разработка системы защитных мероприятий при производстве зерновых культур	137
Чернова Н.И. Трансформация биомассы микроводорослей в биодизель; оценка энергозатратности процесса	142
Широких И.Г. Сравнение спектров антибиотикорезистентности у стрептомицетов из селитебной и промышленной зон города	148

**ЭМИЛИЯ АДРИАНОВНА ШТИНА –  
ВЕЛИКИЙ РОССИЙСКИЙ АЛЬГОЛОГ**

**Домрачева Л.И.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,  
dli-alga@mail.ru*

Есть люди, чьи имена уже при жизни становятся легендой. Такой была Эмилия Адриановна Штина, ставшая мировым символом почвенной альгологии.

Она родилась 1 июля 1910 г. в Вятской губернии – ссыльном краю царской России. Вся её научная, общественная и педагогическая деятельность протекала в Советском Союзе. Закат своих дней она встретила в новой России, так не привыкнув и не смирившись, что её многие ближайшие друзья, коллеги, ученики стали жителями чужих государств – Украины, Молдовы, Грузии, Азербайджана, Узбекистана, Литвы, Эстонии, Таджикистана, Армении, Казахстана. Не было ни одной страны в мире, кроме СССР, где бы так тщательно изучался состав флоры водорослей в различных типах почвы в каждой из союзных республик. Не случайно на всесоюзные конференции и просто на консультации по почвенным водорослям в маленький Киров, где жила и работала Эмилия Адриановна, съезжались исследователи со всех концов необъятной страны – от Калининграда и Петрозаводска до Якутска и Магадана, от Таллинна и Кишинёва до Ташкента и Душанбе. В годы, которые позднее назвали застоём, кипела научная жизнь на кафедре ботаники Кировского сельскохозяйственного института, на кафедре, которую долгие годы возглавляла Эмилия Адриановна, на кафедре, где за проведением опытов и микроскопами её ученики засиживались до глубокой ночи, и освещённые окна здания агрономического факультета были единственными яркими окнами на спящем проспекте.

Эмилия Адриановна прожила 97 лет. Эти годы вместили все ужасы, горести, завоевания и победы 20 века – I и II мировые войны, гражданскую и Великую Отечественную войну, революции, коллективизацию, построение социализма, пятилетки, наши победы в космосе, победы советской науки и её упадок в годы развала СССР. И все эти годы Эмилия Адриановна всегда была окружена любовью и преданностью своих родных и близких, коллег, друзей, учеников. Она сама умела дружить, как никто другой. Она раскрывала лучшие качества своих учеников и так умела сплотить их, что возникло братство людей разного возраста, живущих в разных краях, объединённых одним именем – Штина. Все мы, работавшие с ней, так и остались навсегда «птенцы гнезда Штинова».

Хрупкая, маленькая женщина обладала твёрдым мужским умом, железной волей и необычайной трудоспособностью. Помимо этого, она вела

дневники на протяжении всей своей жизни – от 12 лет и до последних дней. Даже фрагменты дневника, изданные в виде воспоминаний «Моя долгая жизнь», раскрывают облик незаурядной, умной, стойкой и чрезвычайно интересной женщины. Её дневники – это летопись века, летопись эпохи, всего, что «это было с друзьями и со страной, это в сердце было моём». Дневники – рассказ о провинциальном детстве и юности, наполненных дружбой, книгами, природой и выбором жизненного пути. В 17 лет Э.А. пишет: «Во мне расцветает безумная жажда жизни. Жить! Как угодно, кем угодно, но жить. Жить и знать! Главное – знать! Как хочется мне, как дико страстно хочется всё знать! О, вот она моя цель, мой «смысл», моё «содержание» – знание, природа». Жажда знаний привела Э.А. сначала на химико-биологическое отделение Вятского педагогического института, затем в аспирантуру МГУ к выдающемуся отечественному ботанику Константину Игнатьевичу Мейеру. В аспирантуре она получила специальность по альгологии. Её кандидатская диссертация посвящена изучению альгофлоры рек Вятки, Камы и других водоёмов Кировской области.

В последующем, работа в Кировском сельскохозяйственном институте (ныне – Вятская сельскохозяйственная академия) определила дальнейшее направление исследовательской работы Э.А. Штиной – изучение почвенных водорослей. В докторской диссертации «Водоросли дерново-подзолистых почв Кировской области и их роль в почвенных процессах», которую она защитила в 1956 г., были заложены основы глубокого, всестороннего изучения почвенных водорослей. Э.А. Штина и её многолетний соавтор и друг, ленинградский альголог Максимилиан Максимилианович Голлербах фактически стали основоположниками новой науки – почвенной альгологии.

Эмилия Адриановна была из плеяды тех великих учёных, результаты исследований которых не стареют с годами, а становятся классикой мировой науки, поскольку посвящены решению фундаментальных проблем, поскольку связаны с глубоким изучением процессов, протекающих в природе.

Направления почвенной альгологии, разрабатываемые Э.А. и её учениками, были связаны с изучением состава, численности и закономерностей распространения водорослей в различных типах почвы. Подробно изучена экология почвенных водорослей, их зависимость от условий среды и взаимодействие с другими обитателями почвы – бактериями, грибами, беспозвоночными. Установлена роль водорослей в создании и восстановлении почвенного плодородия – накопление ими органического вещества, их противоэрозионное значение, их роль в рекультивации нарушенных земель. Многочисленные исследования посвящены влиянию водорослей на высшие растения и разработке приёмов практического использования водорослей. Впервые было показано, что водоросли можно применять для биологической индикации состояния почвы, загрязнённой агрохимикатами или испытывающей техногенное воздействие.

Эмилия Адриановна была счастливым человеком, так у неё всю жизнь была любимейшая работа. Её окружала любящая и понимающая семья. У неё

был любимым муж, любимые дети и внуки. Её письма к мужу всегда начинались: «Здравствуй, родной мой...». Муж был для неё не только любимым мужчиной, но самым верным другом, разделяющим с Э.А. все научные поиски и замыслы. После его смерти Э.А. постоянно поддерживала связь с однополчанами мужа, а праздник Победы был для неё одним из самых святых и великих праздников.

Э.А. была преданным другом. В 75 лет она пишет М.М. Голлербаху: «Пожалуйста, береги себя, ты так нужен! Чем больше людей нашего поколения уходит безвозвратно, тем ценнее остающиеся светлые умы, несущие в себе мудрость и опыт многих поколений. Наша задача - бороться за человеческое достоинство путём активной работы. Я горжусь тем, что кому-то отдала лучи радости».

В 88 лет в своём дневнике Э.А. пишет: «Кто я? По темпераменту – меланхолик (восприятие медленное, но глубокое). По жизненной стратегии – верблюд (выносливость, терпение, работоспособность, неумение быть лидером). Хорошая, но избирательная память – хорошее помнится, плохое забывается... Неумение «качать права»... Вся жизнь – жизнь того поколения, которое называют «совками», высмеивают, поливают грязью.

Счастливейшее поколение думающих, а не только жрущих людей. А сколько хороших людей было в моей жизни! Все периоды моей жизни несли свою долю счастья...»

В одном из интервью Э.А. говорила: «В науку попадали разные люди, были и «зубры», и «карьеристы», и «рабочие лошадки». На последних, как правило, держалась основная работа, они создали то, чем пользуются и ещё будут пользоваться люди долгое время. Я – старая рабочая кляча...»

Эмилия Адриановна Штина была и остаётся лидером почвенной альгологии; была и остаётся нашим мудрым учителем и другом. Повторить её путь невозможно. Но мы все в своих работах можем и должны поддерживать приоритет российской почвенной альгологии [1-6].

#### Литература

1. Гайфутдинова А.Р., Домрачева Л.И., Трефилова Л.В. Перспективы использования *Fisherella muscicola* и азида натрия для подавления развития *Fusarium solani* // Теоретическая и прикладная экология. – 2013. – №2. – С. 67-75.
2. Домрачева Л.И., Козылбаева Д.В., Ковина А.Л., Трефилова Л.В., Зыкова Ю.Н., Грипась М.Н., Изотова В.А. Оптимизация микробиологического состава биопрепарата при выращивании лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.). // Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – №1. – С. 94-101.
3. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В. К 100-летию со дня рождения Э.А. Штина // В сборнике: Водоросли: таксономия, экология, использование в мониторинге. – Екатеринбург, 2011. – С. 5-7.
4. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Горностаева Е.А., Малыгина О.Н., Новокшонова Н.В. Влияние способов предпосевной обработки семян лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) на всхожесть и интенсивность



образования клубеньков. Теоретическая и прикладная экология. – 2014. – №3. – С. 67-72.

5. Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Использование почвенных цианобактерий в агрономической практике // В книге: Инновационное развитие агропромышленного комплекса как фактор конкурентоспособности: проблемы, тенденции, перспективы: Коллективная монография. – Киров, 2020. – Ч. 1. – С. 22-39.

6. 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. 31-41.

**УДК 631.95**

## **ПЕРСПЕКТИВНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНОЙ МИКРОБИОТЫ РАСТЕНИЙ В АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ**

**Домрачева Л.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
anastasi0301@yandex.ru*

<sup>2</sup>*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар,  
nm-flora@yandex.ru*

**Аннотация.** Освещены основные направления и результаты исследований, проводимых на кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА по использованию поверхностной микробиоты различных видов растений. Доказана перспективность разработки совершенно новых биопрепаратов, биостимуляторов роста на основе поверхностных микробиомов растений.

**Ключевые слова:** микробиота растений, фитостимуляторы, антифунгальная активность, тест-организмы.

Поверхность растений заселена огромным количеством микроорганизмов (МО). Ассоциации МО с растениями играют большую роль в их развитии, принимая участие в снабжении растений элементами питания, фитогормонами, витаминами, а также многие из них являются продуцентами соединений-ингибиторов патогенной микрофлоры [1]. Заинтересованность исследователей микробными комплексами фитосферы в последнее время обоснована тем, что современная биотехнология, в частности, направлена на выявление специфичности микробиомов разных видов растений, а также на разработку стратегий выделения ассоциативных с растениями МО с фиторегуляторными, фитосанитарными и биоконтролирующими свойствами [2]. Особую ценность могут представлять перспективы выделения микробов-продуцентов как агентов биоконтроля над развитием нежелательных МО, а так же микроорганизмов-биотестеров состояния окружающей среды.

Цель работы: определить возможность биотехнологического использования микроорганизмов, выделенных с поверхности различных растений. В наших опытах ранее исследовали не только микрофлору современных растений, но и 100-летних гербарных образцов растительности из коллекции кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА, в частности бурых водорослей *Ascophyllum nodosum* (L.) LeYalis (собранных на Мурманском побережье Баренцева моря 15 сентября 1927 г.); *Fucus vesiculosus* L. (собранных на скалах верхней литорали Дальнезеленецкой губы Мурманского побережья 22 августа 1940 г.); *Laminaria digitata* (L.) Lamour (собранных в Кольском заливе, Мурманск 7 сентября 1929 г.) и растений семейства Ranunculaceae (Лютиковые): прострел раскрытый, или сон-трава (*Pulsatilla patens* (L.) Mill), лютик ядовитый (*Ranunculus sceleratus* L.), лютик золотистый (*Ranunculus auricomus* L.), полученных в дар из Петербургской коллекции флоры Вятским сельскохозяйственным техническим училищем повышенного типа имени императора Александра II в 1901 г., ныне Вятской ГСХА. Несмотря на жесткие условия гербаризации растений, ризосферный анализ показал высокую выживаемость не только бактерий р. *Bacillus*, но и микромицетов. Так, в ризосфере растений семейства Лютиковые был выделен и определен микромицет *Trichoderma* sp, обладающий высокой антагонистической активностью против наиболее распространенных в Кировской области патогенных грибов р. *Fusarium* [3]. Триходерма по-разному воздействовала на грибные культуры: подавляла рост *F. culmorum* и *F. oxysporum* в 2 и в 3 раза по сравнению с контролем соответственно. В то же время практически не влияла на развитие *F. poae* (табл. 1).

Таблица 1

Влияние *Trichoderma* sp на степень развития фитопатогенных грибов на поверхности питательной среды (%)

Вариант	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium poae</i>
Контроль	100	60	100
<i>Trichoderma</i> sp.	50	20	97

Бактерии р. *Bacillus* (*B. mesentericus* и *Bacillus* sp.), выделенные с гербарных образцов бурых водорослей, были использованы в качестве тест-организмов на присутствие в среде лаурилсульфата натрия (ЛСН) - синтетически поверхностно-активного вещества (СПАВ). Бактерии данного рода известны своей устойчивостью к различным видам поллютантов, но в данном случае бациллы, выделенные с гербарных образцов, оказались высокочувствительными к СПАВ (табл. 2). Сила угнетающего эффекта ЛСН на оба штамма бацилл увеличивалась по мере увеличения концентрации поллютанта: для *B. mesentericus* в 407 раз в варианте 2 расчетных дозы (р. д.) и в 19,6 раз – для *Bacillus* sp. при 0,5 р. д. Примечательно, что возраст данных бактерий выше, чем срок применения ЛСН, данные бактерии прежде не соприкасались с данным веществом [4].

Таблица 2

Влияние возрастающих концентраций ЛНС на численность бактерий

Вариант	Численность клеток, КОЕ/мл	
	<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus sp.</i>
Контроль	149600±3500	80400±7200
0,25 р. д.	14300±1900	5500±400
0,5 р. д.	11000±1200	4100±600
1,0 р. д.	6300±960	0
2,0 р. д.	367±57	0
4,0 р. д.	0	0

Микрофлора старинных гербарных образцов несет в себе большую ценность в изучении ее свойств, так как в ней сохраняется пул микробов, когда-то обитающих в относительно чистых экотопах, поэтому важны дальнейшие исследования и разработки на основе выделенных микроорганизмов.

Перспективными также оказались исследования, проводимые совместно с сотрудниками ФАНЦ Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого, по выделению с поверхности сельскохозяйственных культур актиномицетов *Streptomyces castelarensis* А-4 и *S. anulatus* Т-2-20. Для совместной реализации фунгицидного эффекта была выбрана культура цианобактерий (ЦБ) *Fisherella muscicola* (Thur.) Gom. 300. Опыт по ингибированию роста фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* показал, что в результате совместного использования культуральных жидкостей (КЖ) ЦБ *Fisherella muscicola*, *Streptomyces castelarensis* А-4 и *S. anulatus* Т-2-20, произошла модуляция физиолого-биохимических свойств партнеров, что привело к существенному сокращению роста фитопатогена в динамике (табл. 3).

Таблица 3

Динамика роста фитопатогенного гриба *F. culmorum* под воздействием бактериальных метаболитов

Вариант	Диаметр колонии, мм		
	3-и сутки	4-е сутки	5-е сутки
Контроль	47,5±4,5	49,3±6,0	90,0±0
КЖ ЦБ	36,7±6,8	32,0±1,5	30,3±6,6
КЖ А-4	44,3±2,1	30,0±6,0	30,3±5,7
КЖ Т-2-20	39,0±2,8	36,7±4,8	21,0±2,7
КЖ ЦБ + КЖ А-4	40,2±4,5	38,3±3,7	21,7±2,5
КЖ ЦБ + КЖ Т-2-20	35,8±5,2	31,7±3,6	19,7±7,1
КЖ ЦБ + КЖ А-4 + КЖ Т-2-20	31,2±5,8	28,3±1,9	14,3±2,3

Антифунгальная активность при объединении водоростворимых метаболитов ЦБ и стрептомицетов начинала проявляться раньше, а ингибирующий эффект был более существенным, чем в вариантах с КЖ этих же культур, взятых по отдельности [5].

Что касается поиска источников с фиторегуляторными свойствами, особое внимание в исследованиях кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА было уделено опытам с применением талломов листоватых лишайников *Parmelia sulcata* Tayl. и *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., не только как объектов, биомониторинга, но и в качестве альтернативного ростстимулятора на примере люпина узколистного. Уникальным исследованием стало определение эпифитной микробиоты лишайников и дальнейшее применение их талломов в виде мульчи для улучшения ростовых качеств семян люпина. Установили возможность использования биомассы лишайников в качестве альтернативного ростстимулятора для люпина узколистного. Сравнение ростстимулирующего эффекта трех видов листоватых лишайников показало, что лучший результат выявлен при использовании *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. (табл.4), вероятно, он обусловлен не только биологически активными веществами таллома, но и более высокими показателями численности микробов-эпибионтов, в первую очередь, азотфиксаторов [6].

Таблица 4

Влияние листоватых лишайников на рост и развитие люпина узколистного

Вариант	Всхожесть, %	Длина корня, см	Высота проростков, см	Индекс роста
Контроль	95,0±10,0	4,4±0,5	6,0±0,5	990,8
<i>Parmelia sulcata</i>	93,3±7,6	5,5±0,7	7,4±0,9	1202,6
<i>Hypogymnia physodes</i>	93,3±7,6	5,9±0,7	8,5±0,7	1347,2

Таким образом, в сложившейся экологической обстановке важен поиск новых решений и выбор иных, альтернативных направлений исследований. Проведенные исследования доказывают перспективность разработки совершенно новых биопрепаратов, биостимуляторов роста на основе поверхностных микробиомов растений.

#### Литература

1. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. – Изд-во Академии наук СССР, 1958. – 418 с.
2. Заикина И.А. Экологическая роль бактериального сообщества эпифитов филлосферы в жизнедеятельности растений: Автореферат дисс. на соиск.уч.ст.канд. биол.наук. – 2008. – 12 с.
3. Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Малинина А.И., Люкина А.Л. Антимикробная активность микромицета *Trichoderma* sp., выделенного из ризосферной почвы лютика ядовитого (*Ranunculus sceleratus*)//Экология родного края: проблемы и пути их решения: Матер. XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров: ВятГУ, 2019. – 348 с.

4. Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Симакова В.С., Берг А.А. Гербарные образцы бурых водорослей и биопленок *Nostoc commune* как носители микрофлоры// Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Кн. 2. – Киров: ВятГУ, 2018. – С. 27-29.
5. Широких И.Г., Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Фокина А.И., Козылбаева Д.В., Короткова А.В., Назарова Я.И., Малинина А.И. Эффекты взаимодействия цианобактерий и стрептомицетов для экологически безопасной защиты растений от фитопатогенов//Цианопрокариоты/цианобактерии: систематика, экология, распространение: Материалы докладов II Международной научной школы-конференции. – Сыктывкар: ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 2019. – С. 290-294.
6. Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Огородникова С.Ю., Коротких А.И., Короткова А.В., Домнина Е.А. Ростстимулирующая активность листоватых лишайников//Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 1. – С. 130–135.

УДК 582.26; 631.466

## РОЛЬ КИРОВСКИХ УЧЕНЫХ В ИЗУЧЕНИИ ПЕДОБИОТЫ

**Домрачева Л.И.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,  
dli-alga@mail.ru*

Аннотация. В становлении почвенной альгологии – науки о почвенных водорослях – огромная роль принадлежит профессору Кировского сельхозинститута Эмилии Адриановне Штиной. Созданная ею школа отечественных альгологов стала мировым лидером в изучении закономерностей распространения, развития и функционирования почвенных микробных фототрофных комплексов, их роли в создании плодородия почвы и очистке её от поллютантов.

Ключевые слова: почвенные водоросли, цианобактерии, альгология, «цветение» почвы.

Несмотря на то, что первые сведения об обитающих в почве водорослях появились ещё в 19 веке, почвенная альгология как наука появилась только в середине 20 века и её создателями стали отечественные ученые Эмилия Адриановна Штина (г. Киров) и Максимилиан Максимилианович Голлербах (г. Ленинград). В своих монографиях [3, 13] они проследили этапы становления почвенной альгологии как самостоятельной науки и обобщили результаты собственных исследований, исследований своих учеников и данные мировой литературы о почвенных водорослях как составной части почвенного микромира.

Основным центром развития почвенной альгологии в СССР стал Кировский сельскохозяйственный институт, в котором работала Э.А. Штина, и были проведены первые в мире конференции по почвенным водорослям в 1967, 1972, 1977 и 1980 годах.

Э.А. Штина (1910-2007) – имя, ставшее легендой в почвенной альгологии. Не каждому учёному на своём веку удаётся стоять у истоков рождения новой науки. Работы по изучению почвенных водорослей в Кировском сельхозинституте она начала в 1949 г. Над докторской диссертацией Э.А. работала 7,5 лет (срок маленький, если учесть, что тема была новая) и защитила её более 60 лет назад в 1956 г. Тема докторской диссертации была «Водоросли дерново-подзолистых почв и их роль в почвенных процессах». И сегодня мы можем рассматривать эту диссертацию как классический образец выполнения и написания научной работы, основные положения которой сохраняют свою актуальность в течение многих десятилетий, так как связаны с изучением закономерностей биологических процессов, протекающих в почве.

В ходе работы над докторской диссертацией Эмилия Адриановна изучила состав и распространение водорослей в целинных и окультуренных почвах Кировской области, установила закономерности их развития от таких факторов, как тип почвы и растительный покров. При изучении альгофлоры пахотных почв было показано, как происходит изменение флоры водорослей при окультуривании почвы, какие группировки водорослей характерны для различных полей севооборота и как происходит их изменение в связи с ротацией севооборота. Очень детально было изучено влияние на распространение водорослей таких факторов, как культурные растения, сезоны года, температура, влажность, удобрения, известкование, обработка почвы.

Пионерный характер носили исследования о взаимодействии между двумя группами фототрофных организмов: высшими растениями и водорослями, Э.А. Штина показала, с одной стороны, каким образом влияют корневые выделения и свойства ризосферы на рост почвенных водорослей. С другой стороны, было установлено влияние почвенных водорослей и их выделений на рост высших растений. До сих пор продолжают интенсивные исследования в области отношений между водорослями и корнями растений.

Также впервые именно в этой диссертации почвенные водоросли были позиционированы как фактор плодородия почвы. Э.А. Штина пишет: «Почвенные водоросли дерново-подзолистых почв представляют собой своеобразную группировку, имеющую специфические приспособления к жизни в почве. Эта группировка отличается не только от водных и воздушных группировок, но и от водорослевых группировок примитивных почв и от наземных разрастаний водорослей. Наряду с такими приспособлениями, как разнообразие метаболизма, выносливость к недостаточной влажности и высыханию, свойственными наземным, скальным водорослям и водорослям примитивных почв, – водоросли дерново-подзолистых почв имеют новое приспособление к жизни в почве, свойственное ряду других почвенных микроорганизмов. Это приспособление состоит во взаимодействии с корнями

высших растений, в процессе которого водоросли используют ряд продуктов жизнедеятельности высшего растения и приобретают способ продвижения в более глубокие слои почвы на поверхности корней» [11].

Эмилия Адриановна ещё в 50-е годы прошлого века выделила следующие процессы как главные направления участия водорослей в формировании почвенного плодородия: накопление органического вещества; стимуляция микробиологической деятельности; фиксация молекулярного азота цианобактериями (ЦБ); воздействие на рост растений выделениями метаболитов; улучшение аэрации почвы; биологическое закрепление минеральных солей; противоэрозионное значение наземных разрастаний; изменение рН почвы.

Работы в области почвенной альгологии продолжали многочисленные ученики Э.А. Штиной. Исследования её аспирантов шли в различных направлениях. Так, проблемам распространения ЦБ, их видового состава и роли в повышении плодородия почвы посвящены исследования Г.Н. Перминовой и А.Н. Третьяковой. Многие штаммы ЦБ, выделенные ими из почвы, вошли в музей фототрофных микроорганизмов кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии и до сих пор продолжается работа с этими штаммами.

Состав, численность и сезонная динамика почвенных водорослей, изменение их альгофлоры в процессе окультуривания почвы изучались Р.М. Куликовой и Т.С. Носковой. Была показана связь водорослевых сообществ с определенными растительными ассоциациями.

Особенностям развития водорослей в почвах агроценозов, их динамике в полях севооборотов, влиянию на водоросли минеральных и органических удобрений, а также гербицидов посвящены исследования Л.С. Балезиной и Г.И. Помеловой. Детальное изучение влияния животноводческих стоков на почвенную альгофлору проведено О.А. Малышевой.

Возможность использования водорослей как индикаторов обеспеченности почвы элементами минерального питания была доказана в опытах К.А. Некрасовой.

Роль водорослей как продуцентов органического вещества, особенности суточной динамики их численности и биомассы, размеры первичной продукции исследованы в работах Л.И. Домрачевой и Г.И. Марковой.

Глубокие исследования, связанные с изучением особенностей развития водорослевых группировок на переувлажненных и осушенных почвах проведены Е.А. Бусыгиной и Л.В. Кондаковой.

Индикационная роль почвенных водорослей, развивающихся на промышленных отвалах и при техногенном загрязнении почвы нефтью доказана в исследованиях Л.Б. Негановой и Т.А. Ельшиной.

Этапы становления почвенной альгологии как самостоятельной науки, анализ результатов исследований Э.А. Штиной и её учеников обобщены с учетом данных мировой литературы о почвенных водорослях как составной части почвенного микромира обобщены в монографиях [3, 12, 13].

Начало глубокого физиологического исследования почвенных ЦБ и водорослей в Кировской области связано с именем Евгении Матвеевны Панкратовой. Она в течение многих лет исследовала вклад азотфиксирующих ЦБ в пополнении фонда азота и поддержании плодородия почв умеренной зоны. Е.М. Панкратова провела изучение степени распространения способности к усвоению молекулярного азота среди представителей ЦБ. Совместно со своим учеником А.С. Вахрушевым разработала новый полевой метод для определения интенсивности азотфиксации у почвенных ЦБ на основе применения тяжелого изотопа азота. Ею было установлено влияние основных экологических факторов на скорость азотфиксации и определена величина азотфиксации в зависимости от сезона года и типа почвы. В результате было получено представление о трансформации органического вещества азотфиксирующих цианобактерий в почве и биогенной миграции азота в биогеоценозе.

Е.М. Панкратова доказала, что в природе ЦБ развиваются и фиксируют азот в ассоциациях с другими почвенными микроорганизмами, поселяющимися в слизи, окружающей их клетки и колонии. Состав подобных ассоциаций зависит от местообитания, сезона и функционального состояния ассоциации в момент исследований. Наиболее тесные метаболические отношения, развивающиеся по типу симбиотических, существуют между водорослями и олигонитрофильными бактериями-спутниками.

В ходе проведенных исследований впервые было определено количество фиксируемого цианобактериями азота на некоторых почвах умеренной зоны. Так, на пойменных почвах они накапливают до 26 кг/га в год; на дерново-подзолистых эродированных азотонакопление варьирует от 3 до 13 кг/кг; на целинных дерново-подзолистых составляет около 3 кг/га. На пахотных почвах «цианобактериальный взнос» азота под озимой рожью и многолетними злаковыми травами – до 11 кг/га.

После минерализации органического вещества ЦБ, которая имеет приблизительно такую же скорость, как и у других микроорганизмов, азот, ранее закрепленный в их клетках, становится доступным высшим растениям. Доступность азота растениям в условиях почв колеблется от 4,5 до 15%. Кроме того, ЦБ могут влиять на растение через физиологически активные вещества, синтезируемые их клетками. Всё это обуславливает необходимость дальнейших поисков методов практического использования ЦБ [9].

Разработке этих направлений в области почвенной альгологии были посвящены кандидатские диссертации учеников Е.М. Панкратовой. В частности, в работе Г.В. Мезенцевой было показано, что скорость трансформации органического вещества ЦБ зависит от скорости деструкции их клеток. Внесение в почву биомассы ЦБ вызывает активизацию в ней микробиологических процессов и повышение содержания минеральных форм азота. Кроме того, Г.В. Мезенцевой было доказано участие биомассы ЦБ в процессах синтеза наиболее ценных для почвенного плодородия гумусовых веществ.



Е.Н. Резник установил роль ЦБ в накоплении азота в пахотных почвах Нечерноземной зоны при «цветении» почвы и размеры азотфиксации отдельных штаммов ЦБ.

А.А. Калинин доказал возможность использования ЦБ в качестве объекта для культивирования агрономически полезных микроорганизмов и в создании модели практического применения ЦБ как вектора внесения подобных консорциумов в почву. Для этого были разработаны методы получения аксеничных культур ЦБ. Система аксенизации включала несколько этапов: использование безазотистых питательных сред; максимальное освобождение трихомов от слизи, облегчающее последующую очистку ЦБ от бактерий-спутников; определение степени загрязнения цианобактериальной культуры методом высева культуральной жидкости на селективные микробиологические среды; выделение чистых культур бактерий-спутников; подбор антибиотиков для их уничтожения. Далее очищенные цианобактериальные культуры использовались для составления на их основе программируемых микробных композитов, включая бактерии рода *Rhizobium*. Предпосевная обработка семян козлятника и гороха подобными ризобиио-цианобактериальными комбинациями оказалась чрезвычайно эффективной. Так, урожай сена козлятника восточного увеличивался на 17,5 ц/га, семян – на 5,8 кг/га, а у гороха урожай семян возрастал на 5 ц/га.

А.А. Ковина продолжала исследования по возможности создания на основе ЦБ искусственных микробных консорциумов. Впервые в этой работе была показана возможность вселения в слизь ЦБ в аксеничном состоянии запрограммируемой микрофлоры – образование устойчивых микробных сообществ, максимально автономных от среды. Проведенные А.Л. Ковиной исследования стали основой испытания новой формы биопрепарата, принцип построения которого был основан на капсулировании в слизи ЦБ хемотрофных бактерий программируемого действия. Показаны преимущества обработки цианобактериальным препаратом семян клевера красного по сравнению со стандартной обработкой семян ризобиями. Эта обработка привела к тому, что увеличилась мощность растений, ветвление и облиственность, количество головок на 1 растение, семян на 1 головку, вес 1000 семян, что привело к увеличению урожайности. Положительный эффект применения данного препарата получен и на таком растении, как капуста.

Работа Л.В. Трефиловой была посвящена разработке основ использования ЦБ в монокультуре и в сложных микробных консорциумах для применения их как стимуляторов роста и антифунгальных препаратов в земледелии. В ходе проводимых исследований по изучению действия на горох цианобактериального консорциума был установлен уникальный факт проникновения гормоногий цианобактерий внутрь клубенька. Это стало доказательством наличия более глубокого контакта корней гороха с цианобактериальным консорциумом, чем представляли ранее, и вероятности образования мутуалистических симбиозов цианобактерий с высшими цветковыми растениями.

Большое практическое значение имеет серия опытов, проведенных на ряде сельскохозяйственных и лесных культур, по установлению ингибирующего действия монокультур ЦБ и смеси нескольких цианобактериальных видов для подавления фузариозных и других грибных инфекций.

Прорывом в поисках оптимальной технологии создания биопрепаратов стало создание биопрепарата в виде агаризованной пасты, эффективность которой была проверена в полевых условиях в лесопитомниках при выращивании семян и саженцев сосны и ели.

Выполненная диссертационная работа Р.Ю. Зяблых продолжила и углубила новое направление в почвенной альгологии – использование ЦБ в качестве основы многовидовых консорциумов. Были созданы взаимоотношения партнеров в бинарных и триплетных искусственных консорциумах между аксеничными культурами азотфиксирующих ЦБ с клубеньковыми бактериями. Вселяемые бактерии способны проникнуть в околочлеточную слизь цианобактерий, что свидетельствует о возникновении тесных взаимоотношений между партнерами. Цианобактерии не уничтожают подсеяемых бактериальных спутников, в бинарных консорциумах не отмечается антагонизма между вселенцами, хотя в триплетных – на определенном этапе развития реакция отдельных микробов в консорциуме может быть различна. Искусственные консорциумы при этом могут сохраняться длительное время в лабораторных условиях при периодическом пересеве на свежие питательные среды.

Итогом многолетней работы в содружестве с Э.А. Штиной и Е.М. Панкратовой стала докторская диссертация Л.И. Домрачевой, посвященная изучению закономерностей формирования и функционирования фототрофных микробных сообществ при «цветении» пахотных почв, механизмам и причинам, его вызывающие [4].

Было показано, что «цветение» почвы – это эпизодически-регулярное явление, связанное с бурным размножением на поверхности водорослей и ЦБ, при котором плотность их популяций достигает десятков миллионов клеток на 1 см<sup>2</sup>. В силу этого «цветение» влияет на свойства самой почвы и её биологическую продуктивность. В сообществах «цветения» почвы различные группы фототрофных микроорганизмов меняют свои количественные соотношения в зависимости от сезонной ситуации с выходом на доминирующие позиции видов с контрастными эколого-биологическими свойствами. В данных сообществах возникают тесные, классические типы отношений фототрофов с гетеротрофными партнерами (грибами, бактериями, беспозвоночными) на уровне физических, трофических и аллелопатических контактов, во многом сходными с фитоценоотическими. Установлено, что специфика «цветения» почвы обусловлена триадой: потоком биогенных элементов, характером взаимодействия между фототрофными партнёрами и активностью почвенных альгофагов.

Видовой состав внутрипочвенных фототрофов выступает как фонд, из которого создается наземное сообщество. Количество видов в наземных фототрофных сообществах намного меньше видового пула в почве. На поверхности выживают и вегетируют от 10 до 50% видов, выявляемых в почве. Контагиозный характер распределения фототрофов в фотическом слое почвы приводит к образованию локальных очагов «цветения», мозаичность которых отражает мозаичность материнской диаспоры. Для возникновения «цветения» необходимо достижение критической массы клеток в подповерхностных слоях. Плотность клеток при «цветении» колеблется в пределах от 40 тыс. до 90 млн./см<sup>2</sup>, биомассы – от 0,001 до 4,0-5,0 мг/см<sup>2</sup>. Разнокачественность видового и группового состава данных сообществ обеспечивает устойчивость «цветения» как в сезонном аспекте, так и на фоне меняющейся агротехники.

Характер отношений между водорослями и цианобактериями меняется периодически в связи с изменением их плотности, возраста, физиологического состояния и экологической обстановки. При обогащении почвы биогенными элементами происходит усиление преобладания немногих видов за счет конкурентного исключения других. В результате возникает континуум фототрофных микробных сообществ, на одном полюсе которого располагаются сообщества с максимальной реализацией видового пула для данной почвы в сезонном аспекте, на другом полюсе – общества, крайне флористически неполноценные, между ними располагаются сообщества, постепенно утрачивающие флористическую наполненность.

Феномен «цветения» почвы отражает её состояние, определяя уровень биогенных элементов как при их исчерпании, так и при избытке. Используя структурно-групповой анализ поверхностных разрастаний, можно определить необходимость удобрения почвы или, наоборот, её детоксикации для выращивания высших растений.

С 2004 г. началось тесное сотрудничество альгологов Вятской ГСХА, Вятского гуманитарного университета и сотрудников лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН, возглавляемой д.т.н., профессором Тамарой Яковлевной Ашихминой. Содружество химиков, альгологов, микробиологов, микологов, физиков позволило открыть новый этап в развитии почвенной альгологии.

Детальное изучение альго-цианобактериальной флоры и особенностей её развития в антропогенно нарушенных почвах было проведено Л.В. Кондаковой и стало итогом её докторской диссертации. В этом исследовании впервые осуществлен сравнительный анализ видового и группового состава прокариотных и эукариотных фототрофов, численности и биомассы альго-цианобактериальных комплексов почв в природных, природно-техногенных и урбанизированных ландшафтах и предложена концепция организации альго-цианобактериальных комплексов исследованных экотопов. Показано, что видовое обилие микрофототрофов складывается из представителей всех отделов почвенных водорослей и ЦБ. Характер доминирования и численность видов определяются типом почвы, фитоценоза и спецификой поллютантов. В

исследованных почвах фоновой территории Государственного природного заповедника «Нургуш» выявлено 99 видов водорослей и ЦБ, в пахотных почвах – 185, в почвах зоны влияния объекта хранения и уничтожения химического оружия – 125, в почвах зоны действия Кильмезского полигона захоронения пестицидов – 56, в почвах в районе влияния Кирово-Чепецкого химического комбината – 42, на территории г. Кирова – 123 вида.

В результате 30-летних исследований альгофлоры тяжелых минеральных гидроморфных почв в их естественном состоянии и после агромелиоративных приемов установлено, что после осушения и глубокого рыхления формируется структура альгоценозов окультуренных пахотных почв, которая сохраняется в течение длительного времени. В рыхленных осушенных почвах увеличивается видовое разнообразие водорослей, в основном за счет желтозеленых – показателей окультуривания почвы, в 2-5 раз возрастает их численность.

Под воздействием различных поллютантов в почвах наблюдается трансформация альгоценозов, которая проявляется в резком падении их видового разнообразия, монофикации, снижении плотности популяций, изменении доминирующих группировок. Антропогенная нагрузка обуславливает изменение видовой структуры и количественных характеристик альго-цианобактериальных комплексов, что проявляется в перестройке таксономической структуры, смене лидирующих группировок, изменении экологической структуры, соотношения эукариотных и прокариотных водорослей. Установлено, что с возрастанием техногенной нагрузки происходит снижение роли эукариотных водорослей и цианфитизация фототрофных комплексов, в которых в зависимости от характера загрязняющих веществ лидирующие позиции занимают гетероцистные (азотфиксирующие) или безгетероцистные формы цианобактерий.

Анализ видового состава альгофлоры загрязненных почв показал, что наиболее устойчивыми видами, толерантными к любым загрязнителям в изученных экосистемах, являются *Nostoc commune*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *N. punctiforme*, *Trichromus variabilis*, *Phormidium autumnale*, *Ph. Uncinatum*, *Ph. Boryanum*, *Leptolyngbya foveolarum*, *L. fragile*, *Microcoleus vaginatus* (Cyanophyta), *Chlamydomonas gloeogama*, *Chlorella vulgaris*, *Bracteacoccus minor* (Chlorophyta), *Hantzschia amphioxys*, *Lutica mutica* (Bacillariophyta). Данные виды могут служить биотехнологической основой создания микробных препаратов, предназначенных для биоремедиации загрязненных почв.

Исследования молодых ученых, пришедших в альгологию в последнее десятилетие, посвящены проблемам, которые стали чрезвычайно актуальными из-за прогрессирующего загрязнения окружающей среды. Поэтому, помимо видового и количественного изучения состава альгофлоры, существенный упор делается на проведение биоиндикационных и биотестовых исследований.

А.И. Фокина создала несколько новых разработок, позволяющих оценивать такие параметры функционирования микробов и микробных комплексов, как сорбционная активность различных групп фототрофных и гетеротрофных микроорганизмов; антифузариозная активность некоторых

альгологически чистых видов ЦБ и их комбинаций с актиномицетами; использование ЦБ для снижения фитотоксичности почвы и другие. В результате проведенных исследований А.И. Фокина установила, что ионы свинца вызывают резкое снижение численности водорослей и цианобактерий в почве, при этом повышенная чувствительность к этому поллютанту характерна для почв луговых и лесных фитоценозов по сравнению с пахотными почвами. В структуре альго-цианобактериальных сообществ до 85% занимают ЦБ из родов *Phormidium*, *Plectonema*, *Trichromus*, *Nostoc*. Впервые, изучая альго-микологические комплексы, она установила, что мере возрастания концентрации свинца в почве увеличивается вклад микроскопических грибов в суммарную микробную биомассу и снижается доля фототрофных микроорганизмов. Экспериментальным путём было доказано, что несколько устойчивых видов ЦБ обладают высокой сорбционной способностью по отношению к свинцу. А.И. Фокина принимала участие в разработке тетразольно-топографического метода биотестирования субстратов, загрязненных свинцом, с использованием ЦБ.

Ю.Н. Зыкова изучала влияния поллютантов на отдельные виды и альго-циано-микологические комплексы почв г. Кирова. Она впервые провела комплексное изучение специфики альго-цианомикологических комплексов в зонах г. Кирова с разной техногенной нагрузкой. Установлено, что максимальное видовое обилие фототрофов характерно для парковой и промышленной зон. Изучение «цветения» городских почв показало, что данный феномен характерен для всех зон города, проявляется в различные сроки, включая зимнюю вегетацию альгофлоры. При этом плотность клеток достигает 18-47 млн./см<sup>2</sup> с обязательным присутствием, кроме водорослей и ЦБ, микромицетов, структура популяций которых служит важным индикационным признаком в биодиагностике городских почв по соотношению форм с окрашенным и бесцветным мицелием. Критерием техногенного загрязнения городских почв служит явление цианофитизации, которое проявляется в доминировании ЦБ в видовом и количественном отношении в наиболее загрязненных зонах города.

В.А. Ефремова также изучала закономерности структуры и развития почвенных водорослей и ЦБ в урбоэкосистеме г. Кирова с использованием методов альгологического, химического анализа и биотестирования. Анализ полученных результатов показал, что почвенная альгофлора является индикатором состояния почвенной среды и отражает характер антропогенной нагрузки в различных функциональных зонах г. Кирова. При оценке почв г. Кирова методами химического анализа и биотестирования было установлено, что наиболее загрязненной является транспортная зона. Транспортная нагрузка оказывает негативное воздействие на развитие желтозеленых водорослей, являющихся индикаторами чистых почв. В транспортной зоне их видовое разнообразие составляет 9%, в рекреационной – 17%. В целом по уменьшению видового разнообразия фототрофов исследуемые функциональные зоны города

располагаются в следующем порядке: рекреационная зона – промышленная зона – транспортная зона – селитебная зона.

Г.И. Березин провел комплексную оценку влияния пестицидов старого и нового поколений при остром и хроническом воздействии на микробные комплексы почв в районе захоронения ядохимикатов и в почве агроэкосистем. Для оценки степени загрязнения почвы пестицидами были использованы такие показатели состояния микробоценозов, как видовой состав водорослей и ЦБ, численность и биомасса альго-циано-микологических комплексов. Была доказана более высокая чувствительность методов биоиндикации (по меланизации грибных комплексов и цианофитизации альгоценозов) при оценке уровня загрязнения почвы по сравнению с применяемыми в экологической практике методами биотестирования с использованием инфузорий и кишечной палочки. Г.И. Березин предложил новый метод оценки степени токсичности пестицидов по показателю дегидрогеназной активности ЦБ, что позволило определить круг наиболее токсичных препаратов. Показано также, что применение современных пестицидов в посевах сельскохозяйственных культур по-разному сказывается на развитии водорослей.

С.С. Злобин в своей работе доказал возможность использования микробных комплексов, включающих водоросли, ЦБ и микромицеты, для оценки состояния и ремедиации техногенно загрязненных территорий. Для этого он провел химико-микробиологическое исследование почв в зоне действия Кирово-Чепецкого химического комбината и изучил возможность использования организмов различной систематической принадлежности для биоиндикации и биотестирования загрязненных почв. Он впервые доказал эффективность использования метода биотестирования загрязненных почв по определению дегидрогеназной активности клеток ЦБ *Nostoc linckia* в почвенной вытяжке тетразольно-топографическим методом. Выявлены сорбционные возможности ЦБ р. *Nostoc*, природных биопленок с доминированием *N. commune* и микромицетов р. *Fusarium* по отношению к тяжелым металлам с использованием 2-х методов определения ТМ в культуральной жидкости: атомно-абсорбционной спектрометрии и инверсионной вольтамперметрии, – показавшие сопоставимость полученных результатов.

Практическое значение имеет предложенный С.С. Злобиным метод сравнительного анализа результатов химических и микробиологических показателей для оценки состояния почвы. Результаты исследования могут быть применены для разработки и оптимизации программ комплексного экологического мониторинга техногенно преобразованных территорий.

Е.А. Горностаева разработала многоуровневый метод биотестирования с использованием ЦБ по совокупности морфологических, биохимических и физиологических показателей. Результаты её исследований показали, что под действием ионов меди и никеля в клетках почвенных ЦБ снижаются интенсивность биохемилюминесценции, дегидрогеназная и каталазная активности, концентрация хлорофилла *a*; возрастают концентрации феофитина и малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов.

Установлен высокий уровень сорбционной активности по отношению к ионам меди и никеля у альгологически чистой культуры почвенной ЦБ *N. linckia* (до 60 %) и природных биопленок с доминированием цианобактерий р. *Phormidium* (до 99 % из растворов с ионами меди и до 96% из растворов со смесью ионов). Было показано, что природные биопленки с доминированием *Nostoc commune* способны к сорбции тяжелых металлов из почв загрязненных экотопов и растворов. Впервые была доказана возможность самовосстановления механически разрушенных природных сообществ *N. commune* с формированием исходного состава фототрофных микроорганизмов, что свидетельствует о высокой степени консортивных связей в данном сообществе.

Полевые опыты, проведенные Е.А. Горностаевой, показали, что предпосевная цианобактериальная инокуляция семян пшеницы и гороха ЦБ *N. linckia* обладает защитным действием для растений при их выращивании в медьзагрязненной почве, снижая уровень накопления ионов меди в надземной части растений до 20 % у пшеницы и до 73,3 % у гороха. В то же время обработка семян горчицы белой культурами почвенными цианобактериями *N. linckia* и *Fischerella muscicola* приводит к стимуляции извлечения ионов меди из почвы и накоплению их в семенах и вегетативной массе растения (до 24,6 % и 52,6 % по отношению к контролю, соответственно). Таким образом, растительно-цианобактериальные комплексы реально использовать для очистки почвы от тяжелых металлов.

Результаты научных исследований Кировских альгологов последних лет обобщены в ряде монографий [1, 2, 5-8, 10].

В настоящее время почвенная альгология по-прежнему остается бурно развивающейся ветвью почвенной микробиологии, поскольку доказан огромный вклад фотосинтезирующих почвенных микроорганизмов – водорослей и ЦБ – не только в почвенное плодородие, но и в процессы, связанные с диагностикой состояния загрязненных почв и с их восстановлением.

#### Литература

1. Биологический мониторинг природно-техногенных систем. – Сыктывкар, 2011. – 388 с.
2. Биоиндикаторы и биотест системы в оценке окружающей среды техногенных территорий. – Киров: О-Краткое, 2008. – 336 с.
3. Голлербах М.М., Штина Э.А. Почвенные водоросли. – Л.: Наука, 1969. – 228 с.
4. Домрачева Л. И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. – Сыктывкар, 2005. – 336 с.
5. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Фокина А.И. Фузари: биологический контроль, сорбционные возможности LAP LAMBERT Academic Publishing. – Германия, 2013. – 182 с.

6. Кондакова Л.В., Домрачева Л.И. Флора Вятского края. Часть 2. Водоросли (Видовой состав, специфика водных и почвенных биоценозов). – Киров: ОАО «Киров. обл. тип.», 2007. – 192 с.
7. Микроорганизмы как агенты биомониторинга и биоремедиации загрязненных почв / под ред. Т.Я. Ашихминой, Л.И. Домрачевой. – Киров: Науч. Изд-во ВятГУ, 2018. – 254 с.
8. Особенности урбозкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока. – Киров: Изд-во Вят ГГУ, 2012. – 282 с.
9. Панкратова Е.М. Роль азотфиксирующих синезеленых водорослей (цианобактерий) в накоплении азота и повышении плодородия почвы: Дис. ... докт. биол. наук. – М., 1981. – 495 с.
10. Устойчивость микробных комплексов почвы к антропогенным факторам среды / под ред. Л.И. Домрачевой, Т.Я. Ашихминой. – Сыктывкар: ИБ ФИЦ Коми УрО РАН, 2019. – 254 с.
11. Штина Э.А. Водоросли дерново-подзолистых почв и их роль в почвенных процессах: Дис.... докт. биол. наук. – М., 1955. – 525 с.
12. Штина Э.А. Флора водорослей бассейна реки Вятки. – Киров, 1997. – 91 с.
13. Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. – М.: Наука, 1976. – 143 с.

**УДК 631.461:631.466.3:581.14**

## **О ВЛИЯНИИ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**Бачура Ю.М., Горбатенко А.А., Новикова А.А.**

*Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины,  
julia\_bachura@mail.ru*

Аннотация. Представлены результаты серии лабораторных экспериментов по изучению влияния микроводорослей и цианобактерий на рост и развитие некоторых овощных культур. Показано, что культуры водоросли *Eustigmatos magnus* и цианобактерии *Nostoc* sp. оказывают стимулирующее действие на рост и развитие томатов и огурцов. Наибольшую эффективность показали разбавленные культуры *Eustigmatos magnus* и *Nostoc* sp. Установлено, что для томатов оптимальным является предварительное замачивание семян в культурах фотосинтезирующих микроорганизмов на 2 часа или обработка семян культурами без предварительного замачивания семян. При выращивании огурцов наибольшие фитозффекты были отмечены при предварительном замачивании семян на 1 час. Увеличение времени замачивания семян обеих овощных культур до 4 часов приводило к снижению всех фиксируемых показателей как при использовании микроводорослей, так и при использовании цианобактерий. В серии экспериментов с огурцами и в некоторых вариантах опыта с томатами отмечен фитопатогенный эффект используемых культур микроводорослей и цианобактерий.



Ключевые слова: водоросли, цианобактерии, почва, фитозэффект.

Экологизация земледелия обуславливает все большее применение ресурсосберегающих приемов в обработке почвы и использование эколого-биосферных способов ведения сельского хозяйства [5]. В рамках данной концепции ведения сельского хозяйства значительный интерес представляет изучение биотехнологического потенциала почвенных микроводорослей и цианобактерий, принимающих активное участие как в улучшении структуры почвы, так и оказывающих положительное влияние на рост и развитие высших растений [2, 3, 4, 7, 8]. Особую актуальность данные группы фотосинтезирующих микроорганизмов на территории Беларуси приобретают в связи с вступлением в силу Закона «О производстве и обращении органической продукции» от 16.11.2018, согласно которому запрещается применять химические удобрения и химические средства защиты растений при производстве органической продукции [6]. В данной работе представлены результаты исследования по изучению возможностей использования почвенных микроводорослей и цианобактерий при выращивании некоторых овощных культур.

В качестве тестовых культур использовали томаты (*Solanum lycopersicum* L.) сорта Перамога 165 (сорт белорусской селекции) и огурцы (*Cucumis sativus* L.) сорта Малыш (ранний гибрид белорусской селекции). Для получения культуральных жидкостей были взяты штаммы эвритермного представителя, способного существовать в широком диапазоне экологических условий, *Eustigmatos magnus* (B. Petersen) D.J. Hibberd и цианобактерии-азотфиксатора *Nostoc* (Vaucher ex Bornet et Flahault). Культивирование микроводорослей и цианобактерий осуществляли при температуре  $20 \pm 3^\circ\text{C}$  при 10/14 часовом чередовании световой и темновой фаз и освещении 3500-4000 лк с барботированием в дневное время. Определение количества клеток микроводорослей и цианобактерий проводили с помощью камеры Горяева по стандартной методике. Семена овощных культур отбирали по размерам и раскладывали на двух слоях фильтровальной бумаги в пластиковые емкости в нескольких повторностях по 50 штук для каждого варианта опыта. В емкости приливали по 5 мл жидкости в соответствии с вариантами опыта: 1) контроль I (питательная среда); 2) контроль II (дистиллированная вода); 3) опыт I (культура водоросли или цианобактерии исходная); 4) опыт II (культура водоросли или цианобактерии, разбавленная 1:1 дистиллированной водой). Использовали два контрольных варианта с целью выявления влияния состава среды на морфометрические показатели проростков. Серия экспериментов включала 4 блока: без предварительного замачивания семян, с предварительным замачиванием семян на 1, 2 и 4 часа. Эксперименты проводили при естественном освещении, при температуре  $22 \pm 3^\circ\text{C}$ , дважды добавляя по 2 мл жидкости в соответствии с вариантами опыта. В ходе экспериментов определяли энергию прорастания и всхожесть семян, измеряли морфометрические показатели проростков. Оценку и учет проросших семян

проводили в соответствии с ГОСТом 12038-84 [1]; также учитывали поражение семян плесневыми грибами. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программных продуктов Statistica (Version 10) и Microsoft Excel.

В серии экспериментов с томатами установлено стимулирующее действие культур микроводорослей и цианобактерий в экспериментах без предварительного замачивания семян и с предварительным замачиванием семян на 1 и 2 часа. При использовании культур микроводорослей *Eustigmatos magnus* наибольшие показатели энергии прорастания семян томатов отмечены в эксперименте с предварительным замачиванием семян (68-92 %). С увеличением времени замачивания семян в контрольных вариантах наблюдали постепенное увеличение энергии прорастания, в вариантах опыта с исходной и разбавленной культурами эустигматоса показатель увеличивался при замачивании семян на 1 и 2 часа и несколько снижался при 4-часовом замачивании семян. При проведении экспериментов с культурой ностока энергия прорастания варьировала в пределах 42-92 %. При увеличении времени замачивания семян наблюдали повышение дружности всходов томатов в контрольных вариантах опыта и варианте опыта с разбавленной культурой ностока. Некоторое снижение энергии прорастания с увеличением времени замачивания семян отмечено в варианте опыта с исходной культурой *Nostoc sp*, что, возможно, обусловлено накоплением в культуре слизи, затрудняющей процесс прорастания семян. Всхожесть семян не имела четкой зависимости от времени замачивания семян и варьировала в пределах от 60 до 94 %.

Наивысшие морфометрические параметры выявлены при использовании разбавленных культур *Eustigmatos magnus* и *Nostoc sp*. в экспериментах без предварительного замачивания семян (фитоэффекты по длине проростков составили 1,1-1,8; по массе проростков – 1,1-2,5) и с предварительным замачиванием на 2 часа (фитоэффекты по длине проростков составили 1,1-1,9; по массе проростков – 1,1-1,8). Увеличение времени замачивания семян томатов до 4 часов приводило к снижению всех фиксируемых показателей как при использовании микроводорослей, так и при использовании цианобактерий. Наибольшее стимулирующее действие на морфометрические показатели проростков томатов оказали разбавленные культуры микроводорослей и цианобактерий.

В серии экспериментов с огурцами положительные фитоэффекты отмечены для культур *Eustigmatos magnus* и *Nostoc sp*. по длине и массе проростков огурцов во всей серии экспериментов; четкой зависимости энергии прорастания и всхожести семян от варианта опыта не выявлено. Показано, что при использовании микроводорослей *Eustigmatos magnus* наибольшие морфометрические показатели отмечены в эксперименте с предварительным замачиванием семян на 1 час; увеличение времени замачивания приводило к уменьшению длины проростков огурцов в 1,1-1,6 раз, массы проростков – в 1,1-1,4 раза. При использовании цианобактерий рода *Nostoc* морфометрические показатели в экспериментах без предварительного замачивания семян и с

замачиванием семян на 1 и 2 часа отличались незначительно; в эксперименте с предварительным замачиванием семян на 4 часа – длина проростков снизилась в 1,3-1,6 раз, масса проростков – в 1,4-1,5 раз. Следовательно, увеличение времени замачивания семян огурцов до 4 часов в культурах фотосинтезирующих организмов приводило к снижению всех фиксируемых морфометрических показателей. Установлено, что при выращивании огурцов культуру микроводорослей рода *Eustigmatos* лучше вносить в концентрированном виде, цианобактерий – в разбавленном виде.

В серии экспериментов с огурцами и в некоторых вариантах опыта с томатами зафиксировано развитие плесневых грибов в контрольных вариантах опыта – поражение семян варьировало от среднего до сильного; в опытных вариантах с исходной и разбавленной культурами микроводорослей и цианобактерий плесневые грибы не были зафиксированы ни в одной повторности, что указывает на антагонистический эффект используемых культур фотосинтезирующих микроорганизмов и, на наш взгляд, требует более детального изучения.

Выполненное исследование показало, что культуры микроводорослей рода *Eustigmatos* и цианобактерий рода *Nostoc* могут оказывать статистически подтвержденное стимулирующее действие на рост и развитие томатов и огурцов. Результаты лабораторных экспериментов могут быть использованы в области сельского хозяйства и биотехнологии при подборе видов водорослей, перспективных для использования в качестве биоудобрений и/или для получения стимуляторов роста высших растений.

Работа выполнена в рамках задания «Использование микроводорослей и цианобактерий в качестве стимуляторов роста при выращивании некоторых овощных культур открытого грунта» (№ ГР 20191297) ГПНИ «Биотехнологии» (Беларусь).

#### Литература

1. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Изд-во станд., 2001. 30 с.
2. 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.
3. Дидович С.В., Москаленко С.В., Темралеева А.Д., Хапчаева С.А. Биотехнологический потенциал почвенных цианобактерий (обзор) // Вопросы современной альгологии. – 2017. – № 2 (14). – URL: <http://algology.ru/1170>.
4. Михеева Т.М. Перспективы использования культивируемых и планктонных микроскопических водорослей // Наука и инновации. – 2018. – № 2 (180). – С. 15-19.
5. Овсянников Ю.А. Земледелие на пороге XXI века // Биология.– 2000.– № 12.– С. 18-21.

6. О производстве и обращении органической продукции: закон Респ. Беларусь от 9 нояб. 2018 г. № 144-З//Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь, 17 нояб. – 2018. – 8 с.

7. Трефилова Л.В. Использование цианобактерий в агробιοтехнологии: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Саратов, 2008. – 26 с.

8. Шальго Н.В. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение // Наука и инновации. – 2019. № 3 (193). – С. 22-26.

**УДК 579.873.71:574.36.547.92**

**ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ *Arthrospira (Spirulina) platensis* CNM-CB-02  
НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОМАССЫ И ЕЁ ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ  
У СТРЕПТОМИЦЕТОВ**

**Бурцева С.А., Бырса М.Н., Березюк Ю.Н., Васильчук А.В.,  
Чеботарь В.И., Рудик В.Ф.**

*Институт Микробиологии и Биотехнологии,  
burtseva.svetlana@gmail.com*

Аннотация. Из биомассы *Arthrospira (Spirulina) platensis* был получен препарат BioR, содержащий аминокислоты, олигопептиды и микроэлементы. BioR добавляли в жидкие комплексные среды для культивирования 3-х разных штаммов рода *Streptomyces*. По результатам опытов установлено, что наличие препарата в среде в количестве 0,1-10,0 % приводит к увеличению образования биомассы, содержания в ней липидов и синтеза таких физиологически важных липидных фракций, как фосфолипиды и стерины.

Ключевые слова: цианобактериальный препарат; стрептомицеты; биомасса; липиды.

Цианобактерии – фототрофные прокариоты, использующие для своей жизнедеятельности энергию света, широко распространены в морях и пресных водоемах, а также и в почве. Они способны синтезировать и секретировать широкий спектр биологически активных веществ [1].

Микроорганизмы, принадлежащие к роду *Streptomyces*, являются продуцентами более, чем 2400 уникальных соединений различного состава, применяющихся в медицине, фармацевтическом производстве, ветеринарии и других отраслях сельского хозяйства [2-4]. Применение продуктов микробиологического синтеза стрептомицетов в сельском хозяйстве является весьма перспективным. Для повышения продуктивности штаммов-продуцентов необходимо рациональное использование различных компонентов питательной среды, в том числе важен поиск новых стимуляторов биосинтетической активности стрептомицетов [5].

В лаборатории Фикобиотехнологии Института Микробиологии и Биотехнологии Академии Наук Молдовы из биомассы *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordst) Geitl CNM-CB-02 путем экстракции и фракционирования был

получен препарат BioR, содержащий аминокислоты, олигопептиды и микроэлементы Mn, Fe, Zn, Cu, Se, Cr и др.

В литературе мало данных о влиянии метаболитов микроводорослей и цианобактерий на биосинтетическую активность стрептомицетов. Ранее нами были проведены опыты, в которых использовали биопрепараты из микроводорослей *Porphyridium cruentum*, *Spirulina platensis*, *Nostoc linckia* в качестве стимуляторов роста и липидообразования штамма стрептомицетов *Streptomyces canosus* 71, предоставленного нам из коллекции Института микробиологии РАН. Было установлено, что культивирование стрептомицетов на комплексных средах с добавлением препаратов из микрофототрофов в количестве 0,1-1,0 мг/л способствовало повышению выхода биомассы на 4,8-24,7 %, а продуктивности липидов – на 12,0-90,7 % [6].

Таблица

Накопление биомассы и липидов стрептомицетами при культивировании на комплексных средах с добавлением препарата BioR

Штамм <i>Streptomyces</i>  Питательная среда	Количество биомассы		Содержание липидов в АСБ	
	г / л	% к контролю	%	% к контролю
<b><i>S. canosus</i> CNMN-Ас-02</b>				
среда М-I	5,38±0,23	100,0±0,05	15,14±0,47	100,0±0,05
среда М-I + 0,1 % BioR	5,93±0,04	110,09±4,63	20,95±0,15	138,36±21,4
среда М-I + 1,0 % BioR	6,37±0,17	118,24±10,37	15,79±0,69	104,28±8,5
среда М-I + 5,0 % BioR	6,55±0,14	121,61±7,26	13,55±0,55	89,49±10,46
среда М-I + 10,0 % BioR	6,84±0,31	127,01±12,47	11,82±0,87	78,05±8,64
среда М-I + 20,0 % BioR	9,77±0,29	181,38±7,93	10,69±0,09	70,62±5,39
среда М-I + 30,0 % BioR	7,9±0,33	146,66±14,09	10,52±0,25	69,5±11,64
<b><i>S. massasporeus</i> CNMN-Ас-06</b>				
среда R	10,95±0,04	100±0,05	6,78± 0,45	100±0,05
среда R + 0,1 % BioR	12,00±0,19	109,58±1,4	6,6±0,1	97,34±2,1
среда R + 1,0 % BioR	14,51±0,21	132,46±1,5	8,1±0,97	119,46±17,46

среда R + 10,0 % BioR	14,86±0,14	135,67±0,8	8,3±1,47	122,41±19,41
среда R+ 20,0 % BioR	14,05±0,10	128,31±0,5	7,8±0,8	115,0±12,35
<b><i>S. fradiae</i></b> <b>CNMN-Ас-11</b>				
среда R	13,46±0,52	100,0±0,05	12,85±0,55	100,0±0,05
среда R + 0,05 % BioR	15,21±0,66	113,01±9,9	10,69±0,21	83,19±25,7
среда R + 0,1 % BioR	15,88±0,44	118,17±8,71	12,28±0,41	95,57±12,7
среда R + 1,0 % BioR	15,48±0,2	115,27±6,62	8,15±0,61	63,39±7,06
среда R + 2,0 % BioR	14,94±0,62	111,15±9,8	7,56±0,79	58,84±8,64
R + 5,0 % BioR	14,27±0,99	106,1±3,68	7,3±0,16	56,78±8,4

Проведенные опыты с другими представителями рода *Streptomyces* показали, что добавление препарата BioR в различных концентрациях к средам культивирования по-разному влияет на образование ими биомассы и содержание в ней липидов, в том числе и таких основных липидных фракций, как фосфолипиды и стерины.

В таблице представлены результаты определения количества биомассы и содержания в ней липидов при культивировании штаммов стрептомицетов на жидких комплексных средах с добавлением препарата BioR в разных количествах.

Исследования показали, что добавление BioR в комплексную среду М-1 (основной источник азота и углерода – кукурузная мука) в разных концентрациях влияло на накопление биомассы штаммом *Streptomyces canosus* CNMN-Ас-02. Согласно данным таблицы, количество биомассы увеличивалось по сравнению с контролем при добавлении цианобактериального биопрепарата на 10,09-81,38 %, диапазон концентраций препарата – 0,1-20,0 % от общего количества среды. Максимальное количество биомассы у этого штамма зарегистрировано при концентрации препарата 20,0 % (81,38 % к контролю). Повышение концентрации биопрепарата до 30,0 % в среде также повлияло на прирост биомассы, который составил только 46,6 % по сравнению с контролем.

Определение изменения содержания липидов в биомассе этого штамма при культивировании на среде сложного состава с наличием в ней препарата BioR показало, что их количество было больше, чем в контроле, только в вариантах с использованием препарата в низких концентрациях. Наилучший результат был отмечен в случае варианта с концентрацией 0,1 % BioR – 138,36 % по сравнению с контролем. Повышение концентрации биопрепарата в среде

культивирования вызывало уменьшение общих липидов в биомассе – 69,5-89,49 % по сравнению с контролем.

При определении влияния препарата BioR на фракционный состав липидов *S. canosus* CNMN-As-02 следует отметить факт стимуляции количества такой значимой липидной фракции, как фосфолипиды: под действием BioR в низких концентрациях (0,1-1,0 %) на 18,2-25,39 % больше по сравнению с контролем. Добавление в среду культивирования биопрепарата в концентрации 5,0-30,0 % также оказало влияние на увеличение фракции, но в меньшей степени (на 1,85-9,78 %).

Анализируя изменение количества стериновой фракции в общих липидах этого штамма, следует отметить, что радикальных изменений после культивирования на среде M-I с добавлением препарата BioR не наблюдается (91,59-97,33 % по сравнению с контролем). Высокая концентрация биопрепарата в среде культивирования вызвала лишь незначительное повышение доли стерinov в липидах биомассы штамма (на 1,00-2,91 %).

Сравнивая результаты экспериментов с полученными нами ранее, необходимо отметить [6], что у *S. canosus* CNMN-As-02 после длительного хранения периодическими пересевами и после лиофилизации снижается активность, поэтому для увеличения его способности к накоплению биомассы и синтезу липидов при культивировании на среде M-I необходимо использовать средние концентрации BioR.

Культивирование выделенного нами из почвы Молдовы другого штамма стрептомицетов – *Streptomyces massasporeus* CNMN-As-06 на жидкой комплексной среде с добавлением биопрепарата цианобактериальной природы в разных концентрациях также способствовало накоплению биомассы в количестве, превышающем контроль (на 9,58-35,67 %). Наилучший результат по биомассе у этого штамма был получен при наличии в среде препарата в количестве 10,0 % – 135,67 % к контролю, причем количество биомассы увеличивалось с увеличением количества препарата в среде от 0,1 до 10,0 %. Последующее увеличение доли препарата в среде культивирования приводило к постепенному снижению количества биомассы. Содержание липидов в биомассе этого штамма также увеличивалось с увеличением доли препарата в среде выращивания. Наилучший результат был отмечен при добавлении в среду препарата в количестве 10,0 % – 122,4 % липидов в биомассе по сравнению с контролем. У этого штамма также увеличение количества препарата в среде приводит к постепенному снижению количества липидов в биомассе штамма. Обращает внимание факт неоднозначного воздействия препарата цианобактериальной природы на синтез таких физиологически важных липидных фракций, как фосфолипиды и стерины у штамма стрептомицетов *S. massasporeus*: количество фосфолипидов увеличилось на 9,58-35,67 % по сравнению с контролем, если к среде культивирования добавляли препарат в концентрации от 0,1 до 10,0 %. Количество стерinov в липидах биомассы этого штамма также увеличилось, когда в среду добавляли препарат в количестве 0,1-10,0 %. Лучшие результаты по стеринам были получены в варианте добавления

препарата в количестве 10,0 % – 122,4 % к контролю. Последующее увеличение количества препарата в среде также приводило к снижению доли стерина в липидах, как и у других штаммов.

По данным таблицы видно, что наибольшее накопление биомассы другим штаммом – *Streptomyces fradiae* CNMN-Ас-11, выделенным нами из почвы Молдовы, происходило при добавлении препарата BioR в среду культивирования (основной источник азота и углерода – кукурузная мука и крахмал) в концентрации 0,1 % – 15,88 г/л (118,17 % к контролю). Исследование содержания липидов в биомассе этого штамма при росте на жидкой комплексной среде с добавлением препарата обнаружило уменьшение их количества в биомассе. Наилучший результат был отмечен при добавлении к среде культивирования препарата в концентрации 0,1 %-12,28 % или 95,57 % к контролю. Некоторое уменьшение количества липидов наблюдали и в варианте с добавлением препарата в концентрации 0,05 % – почти на 17,0 %. С увеличением количества препарата, добавляемого в среду культивирования штамма, было замечено постепенное снижение и в количестве образуемой штаммом биомассы, и в количестве содержания в ней липидов. Это происходит, вероятно, потому, что этот препарат по своей химической характеристике является комплексом ряда аминокислот и олигопептидов, а в связи с индивидуальными особенностями этого штамма не оказал стимулирующего действия на его рост [7].

Определение фракционного состава липидов биомассы штамма стрептомицетов *S. fradiae* показало, что количество основных липидных фракций, особенно таких физиологически активных, как фосфолипиды и стерин, изменялось в зависимости от количества присутствующего в среде культивирования препарата BioR. Так, например, наибольшее количество фосфолипидов наблюдали в липидах биомассы этого штамма, выросшего на жидкой комплексной среде с добавлением препарата в концентрации 0,05 % – 19,94 % к общим липидам (при 19,34 % в контроле). Наибольшее количество другой не менее важной липидной фракции – стерина было выявлено в липидах биомассы, полученной при культивировании штамма на жидкой комплексной среде с добавлением препарата в концентрации 0,1 % – 18,8 % (при 12,14 % этой фракции в контроле).

Таким образом, проведенные исследования показали, что использование препарата цианобактериальной природы BioR приводит к увеличению количества биомассы у стрептомицетов при культивировании их на сложных комплексных средах, содержания в ней липидов и синтеза таких физиологически важных липидных фракций, как фосфолипиды и стерин. Однако для получения положительного эффекта следует учитывать особенности штамма стрептомицетов, а также состав среды и концентрацию добавляемого в среду культивирования препарата.



## Литература

1. Pereira D.A., Giani A. Cell density-dependent oligopeptide production in cyanobacterial strains//*FEMS Microbiol. Eco.* – 2014. – № 88(1). – P. 175-183.
2. Berdy J. Bioactive microbial metabolites// *J. of Antibiotics.* – 2005. – Vol. 58. – P. 1-26.
3. Евтушенко И.А., Соколова И.Е. Авермиктины – БАВ стрептомицетов // *Вісник Дніпропетровського університету.* – 2006. – Т. 1. № 14. – С. 58-63.
4. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: Изд-во МГУ, «Наука», 2004. – 528 с.
5. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. – Москва: Агропромиздат, 1990. – 240 с.
6. Бурцева С.А. Биологически активные вещества стрептомицетов (Биосинтез, свойства, перспективы применения): Автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора хабилитат биологических наук. – Кишинев, 2002. – 39с.
7. Rudic V. *BioR. Biomedical and clinical studies.* Chisinau: Elena V.I. – 2007. – 376 p.

УДК 582.26/27+ 582.232+591.53+591.524.1+598.2

## ОСНОВНЫЕ ПУТИ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ЦИАНОБАКТЕРИЯМИ И ПТИЦАМИ

**Гольдин Е.Б.**

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского ,  
evgeny\_goldin@mail.ru,  
evgenygoldin@gmail.com*

Аннотация. В обзоре рассмотрены основные аспекты взаимосвязей между цианобактериями и птицами на трофическом, симбиотическом и биоцидном уровнях. Показано, что эти биологических категории не представляют собой структуры с выраженными границами, но в экосистемах наблюдаются различные варианты их сочетаний, или переход одной формы отношений в другую. При этом связи между важнейшими компонентами экосистем - цианобактериями и птицами – характеризуются недостаточной изученностью, несмотря на значение проблемы.

Ключевые слова: цианобактерии, птицы, межвидовые отношения, трофические связи, биоцидная активность.

Реальное многообразие существующих форм межвидовых взаимосвязей между цианобактериями и птицами значительно превышает существующий ныне объем знаний в этой области. Отношения между древнейшими и самыми молодыми обитателями планеты, во многом определяющие положение в формировании современных местообитаний, включают несколько комплексов. Как и большинство биологических категорий, они не представляют собой структуры с четко выраженными границами, однако в экосистемах

наблюдаются различные варианты их сочетаний, или переход одной формы взаимоотношений в другую.

Проведенный аналитический обзор научных материалов за последние 60 лет, охвативший свыше 900 источников, позволяет выявить ряд уровней взаимодействия цианобактерий с орнитофауной на обширных пространствах от Арктики до Антарктиды.

1. Трофический уровень. Цианобактерии, будучи базовым звеном в пищевых цепях, участвуют в сложном механизме саморегуляции природных экосистем. При этом происходит избирательное питание растительноядных птиц определенными видами цианобактерий (*species-specific feeding*). В природе этот процесс практически не изучен (вполне вероятны случаи питания морских птиц, например, малой гагарки люрика (*Alle alle* Linnaeus) фитопланктоном, однако распространенный в мире опыт использования цианобактерии *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordstedt) Gomont в птицеводстве позволяет предположить его значимость.

С другой стороны, многочисленные случаи гибели птиц в природе, в первую очередь, водных, обусловлены передачей токсинов цианобактерий по трофическим цепям (моллюски/зоопланктон-рыба). При этом максимальная концентрация этих соединений (микроцистина, нодулярина и т.д.) происходит на вершине пищевой пирамиды [1].

Примером может служить птичья вакуолярная миелинопатия (avian vacuolar myelinopathy, AVM) – неврологическое заболевание, вызывающее гибель белоголового орлана *Haliaeetus leucocephalus* Linnaeus и американской лысухи *Fulica americana* Gmelin в водоемах на юго-востоке США. С 1994 г. AVM, как принято считать, вызвала смерть свыше 170 белоголовых орланов, тысяч лысух и других диких птиц. Заболевание связано с токсином, продуцируемым цианобактерией *Aetokthonos hydrillicola* S.B. Wilde et J.R.Johansen – эпифита водного растения-интродуцента гидриллы мутовчатой *Hydrilla verticillata* (L.F.) Royle. По всей вероятности, токсин аккумулируется в желудочно-кишечном тракте водоплавающих птиц, потребляющих водную растительность, которые, в свою очередь, становятся жертвами хищных птиц. *A. hydrillicola* идентифицирована во всех водоемах, где происходит гибель от AVM и где произрастает *H. verticillata*. Кроме того, существует угроза для исчезающей популяции общественного коршуна-слизнеда *Rostrhamus sociabilis* Vieillot, питающегося моллюсками, которые обитают на гидрилле. Заражение токсином также может происходить при поедании некрофагами туш павших птиц [2].

В 1989-1991 гг. сотни бурых пеликанов (*Pelecanus occidentalis* Linnaeus), и бакланов Брандта (Brandt's cormorants) (*Phalacrocorax penicillatus* Brandt), погибли в бухте Монтерей (Калифорния) после питания калифорнийскими анчоусами (*Engraulis mordax* Girard), отравленными домоевой кислотой при «красном приливе» *Pseudo-nitzschia australis* Frenguelli [3]. По этой же причине в 1996 и 2004 гг. в Мексике происходили случаи гибели бурых пеликанов и морских млекопитающих при питании сардинами [4]. Гибель крякв была

зарегистрирована на озерах провинции Альберта в Канаде в 1985 г. (параллельно с массовой гибелью летучих мышей) [5].

Передача токсинов по пищевым цепи может иметь и другие проявления. Антибактериальная активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям содержимого желудочно-кишечного тракта буроголовой чайки (*Larus (Chroicocephalus) brunnicephalus* Jerdon) связана с присутствием цианобактерий *Trichodesmium erythraeum* Ehrenberg ex Gomont, попавшими в желудок во время красного прилива с кормом – пелагическими рыбами сельдью (*Hilsa (Alausa) kanagurta* Bleeker) и южноазиатской скумбрией (*Rastrelliger kanagurta* Cuvier) [6].

2. Симбиотический уровень. Выражен в распространении цианобактерий при помощи водных и сухопутных птиц, включая перемещение в более благоприятные условия, способствующие повышению степени выживаемости. Этот путь расселения принадлежит к числу наиболее предпочтительных. Водоемы с высоким биологическим разнообразием и обилием цианобактерий привлекают многочисленную орнитофауну, ряд представителей которой переносит клетки и колонии по направлениям своих миграций. Об этом свидетельствуют соскобы и смывы с лап, перьев и клювов ряда водоплавающих птиц (например, полярной крачки *Sterna paradisaea* Pontoppidan), а также анализ содержимого желудочно-кишечного тракта и экскрементов. В материале присутствовали *Anacystis marina* (Hansgirg) Drouet et Daily; *A. Montana* (Lightfoot) Drouet et Daily, *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet et Flahault и *Schizothrix calcicola* Gomont [7]. У кряквы *Anas platyrhynchos* Linnaeus и других *Anseriformes* в пищеварительном тракте обнаружены цианобактерии *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju; *Microcystis aeruginosa* Kützing emend. Elenkin; *Oscillatoria* sp.; *Anabaena flosaquae* Brébisson ex Bornet et Flahault и мелкая не планктонная форма *Anabaena* sp. Некоторые виды были выделены из фекалий лебедя-шипунa *Cygnus olor* Gmelin [8 и др.]. Выживаемость цианобактерий, включая возбудителей «цветений» воды, на протяжении определенного периода в организме водоплавающих птиц указывает на реальность их расселения таким образом.

3. Бицидный уровень. Проявляется в патологических или летальных последствиях, связанных с активным продуцированием биологически активных и/или токсичных веществ. Влияние цианобактерий на птиц проявляется в широком диапазоне – от снижения трофической активности, потере способности откладывать яйца и координации движений до летального эффекта. Известны многочисленные факты гибели водоплавающих птиц, которые происходят во всем мире, но далеко не все находят отражение в научной литературе. Как правило, с позднего плиоцена до наших дней они сочетаются со вспышками массовых размножений цианобактерий и приводят к катастрофическим последствиям для орнитофауны [9].

Массовая гибель малого фламинго *Phoenicopterus minor* Geoffroy Saint-Hilaire, в течение последних двух десятилетий на рифтовых щелочных соленых озерах Кении Виктория, Богория, Накура и Олоидиен (речь идет о десятках

тысяч случаев) связана с токсинами цианобактерий – микроцистином–LR, –RR, –LA и –LF, наряду с анатоксином–А, которые были обнаружены в цианобактериальных матах, содержимом желудков, перьях и фекалиях птиц. Выделенные штаммы *Anabaena discoidea* (Schmidle) Ostensfeld (местный эндемик), *A. flosaquae* и *M. aeruginosa*, а также *Arthrospira fusiformis* (Woronichin) Komárek et J. W. G. Lund продуцировали ряд токсинов. Периодически доминирование этих видов прерывалось появлением зеленой микроводоросли *Picocystis salinarum* Lewin и цианобактерии *Anabaenopsis* sp. Популяции *Anabaenopsis* sp., состоят из крупных слизистых колоний, блокирующих фильтрационную пищевую систему фламинго, продуцируют токсины, при этом повышается восприимчивость птиц к инфекциям, вызываемым *Mycobacterium avium* и *Pseudomonas aeruginosa*. В определенные периоды в озерах доминируют *Anabaena* sp. и *Microcystis* spp. Аналогичные случаи были отмечены также на щелочных озерах Танзании (Маньяра) [5, 10], где деструктивные изменения проявились в печени, при высоком уровне восприимчивости к инфицированию *Corynebacteria* spp., *Pasteurella multocida*, *Proteus* spp. И *Escherichia coli*. Это показывает возможность проявления смешанного воздействия на птиц токсинов, продуцируемых несколькими видами цианобактерий.

Летом 2004 г. не менее 6000 птиц 47 видов, включая находящиеся под охраной мраморного чирка *Marmaronetta angustirostris* Menetries и белоголовую савку *Oxyura leucocephala* Scopoli, погибли на юго-западе Испании в одном из главных биосферных резерватов Европы, где обитает более 70,0% европейской орнитофауны (Doñana National Park). Ранее (2001 г.) в этом же парке была отмечена массовая смертность фламинго, обусловленная вспышкой «цветения» цианобактерий. Всего же аналогичных происшествий с участием цианотоксинов с 1973 г. насчитывается не менее 18. Причиной катастрофы на этот раз стало развитие *M. aeruginosa* при поражении птиц токсином MC-LR, происходившим прямым (при непосредственном потреблении) и косвенным (через пищевые цепи) путями [Lopez-Rodas et al., 2008].

Таким образом, даже краткий обзор многогранного спектра взаимоотношений цианобактерий с орнитофауной подчеркивает необходимость проведения широких исследований в этой сфере.

#### Литература

1. Hilborn E.D., Beasley V.R. One health and cyanobacteria in freshwater systems: Animal illness and death are sentinel events for human health risks//Toxins (Basel). – 2015. – Vol 7 (4). – P. 1374-1395.
2. Wilde S.B., Johansen J.R., Wilde H.D., Jiang P., Bartleme B.A., Haynie R.S. *Aetokthonos hydrillicola* gen. et sp. nov.: Epiphytic cyanobacteria associated with invasive aquatic plants and implicated in bird deaths from avian vacuolar myelinopathy//Phytotaxa. – 2014. – Vol. 181. № 5. – P. 243-260.

3. Work T. M., Beale A.M., Fritz L. et al. Domoic acid intoxication of brown pelicans and cormorants in Santa Cruz, California//Toxic phytoplankton blooms in the sea. T. J. Smyada, Y. Shimizu, eds. – Elsevier: Amsterdam, 1993. – P. 643-649.
4. Sierra-Beltran A.P., Cortes-Altamirano R., Gallo-Reynoso J.P., Licea-Duran S., Egido-Villarreal J. Is *Pseudonitzschia pseudodelicatissima* toxin the principal cause of sardines, dolphins, sea lions and pelicans mortality in 2004 in Mexico?//Harmful Algae News. – 2005. – 29. – P. 6-8.
5. Stewart I., Seawright A.A., Shaw G.R. Cyanobacterial poisoning in livestock, wild mammals and birds – an overview//Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs Ed. H. K. Hudnell. Springer: Science+Business Media LLC, 2008. – Vol. 619. – Chapter 28. – P. 613-637.
6. Ramamurthy V.D. Antibacterial activity of the marine blue-green alga *Trichodesmium erythraeum* in the gastro-intestinal contents of the sea gull *Larus brunicephalus*//Mar. Biol. – 1970. – Vol. 6, N 1. – P. 74-76.
7. Schlichting H. E., Speziale B. J., Zink R. M. Dispersal of Algae and Protozoa by Antarctic flying birds//Antarctic Journal U.S. – 1978. – 13. – P. 147-149.
8. Atkinson K.M. Birds as transporters of algae//British Phycological Journal. – 1972. – 7. – P. 319-321.
9. Shumway S.E., Allen S.M., Boersma P.D. Marine birds and harmful algal blooms: sporadic victims or under-reported events?//Harmful Algae. – 2003. – Vol. 2. № 1. – P. 1-17.
10. Nonga H. E., Sandvik M., Miles C. O., Lie E., Mdegela R. H., Mwamengele G. L., et al. Possible involvement of microcystins in the unexplained mass mortalities of Lesser Flamingo (*Phoeniconaias minor* Geoffroy) at Lake Manyara in Tanzania//Hydrobiologia. – 2011. – Vol. 678. № 1. – P. 167-178.
11. Lopez-Rodas V., Maneiro E., Lanzarot M. P., Perdignes N., Costas E. Mass wildlife mortality due to cyanobacteria in the Doñana National Park, Spain//Veterinary Record. – 2008. – Vol. 162. № 10. – P. 317-318.

**УДК 502.654:665.6**

## **ВЛИЯНИЕ НЕФТИ НА ПОЧВЕННЫЕ ВОДОРОСЛИ И ЦИАНОБАКТЕРИИ: ВКЛАД КИРОВСКОЙ ШКОЛЫ АЛЬГОЛОГОВ**

**Дорохова М. Ф.**

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
dorochova@mail.ru*

Аннотация. Представлены основные результаты исследований водорослей и цианобактерий в почвах, загрязненных нефтью и нефтяными сточными водами, коллективом альгологов под руководством Эмилии Адриановны Штиной.

Ключевые слова: нефть, водоросли, цианобактерии, рекультивация.

Глобальное распространение добычи нефти и газа и повсеместное их использование обусловили выделение нефтегазовой геоэкологии в отдельное направление. В числе приоритетных задач нефтегазовой геоэкологии – изучение влияния углеводородов на почвы и биоту, разработка эффективных методов рекультивации загрязненных земель и поиск видов-индикаторов углеводородного загрязнения.

Большой вклад в развитие этих задач внес коллектив альгологов под руководством профессора Эмилии Адриановны Штиной: Клара Анатольевна Некрасова, Евгения Аркадьевна Бусыгина, Лия Борисовна Неганова, Татьяна Анатольевна Ельшина. В конце 70-х годов прошлого века этот коллектив включился в комплексный эксперимент «почва-нефть», проводимый в соответствии с Программой экологических исследований АН СССР.

Программа включала в себя:

- 1) изучение влияния нефти и пластовых вод на почвы, почвенную биоту, фотосинтез;
- 2) изучение трансформации нефти в почвах;
- 3) изучение процессов самоочищения нефтезагрязненных почв и разработку научно обоснованных методов их рекультивации.

Полевые исследования проводились по единому плану в нефтегазоносных бассейнах разных природных зон бывшего СССР (лесотундровой, таежной, лесостепной, степной, сухих субтропиков). Они включали в себя как натурные наблюдения на датированных разливах пластовой жидкости, нефтяных пластовых вод и нефти (сырой и товарной), так и полевые эксперименты по загрязнению зональных почв разными дозами товарной нефти Сургутского месторождения и использованию разных приемов их рекультивации.

Уникальность этих исследований состояла в их комплексности - в них приняли участие альгологи, ботаники, почвоведы-геохимики, микробиологи, зоологи, нефтяники – ученые Московского, Казанского, Пермского государственных университетов, Кировского и Пермского сельхозинституты, Института экологии растений и животных НЦ АН СССР, Института биологии Коми НЦ АН СССР и институтов Министерства нефтяной промышленности СССР.

Почвенно-геохимическое направление научной работы по Программе координировала профессор МГУ Мария Альфредовна Глазовская – блестящий ученый, талантливый педагог. Марию Альфредовну связывали с Эмилией Адриановной долгие годы дружбы.

К началу работ по Программе экологических исследований влияние нефтяного загрязнения на почвенные микроорганизмы было почти не изучено. Первые сведения об этом были опубликованы в 1976 году [1], они свидетельствовали о высокой чувствительности почвенных водорослей к загрязнению почвы нефтью, которое сильно подавляло их численность. Однако о составе водорослей и цианобактерий никакой информации не было представлено.

Альгологические исследования нефтезагрязненных почв в СССР начались одновременно в двух научных центрах – Кирове и Уфе. В Кирове научным руководителем этих исследований была Эмилия Адриановна Штина.

Пионерной работой, выполненной под ее руководством, стало изучение альго-цианобактериальных сообществ песчаных грунтов, загрязненных нефтью, на территории нефтяных месторождений в Тюменской области [2]. Впервые были получены данные о видовом составе почвенных водорослей и цианобактерий на загрязненных нефтью грунтах. Впервые было показано, что наиболее чувствительны к загрязнению нефтью желтозеленые и диатомовые водоросли. Впервые было установлено, что важным фактором разнообразия водорослей и цианобактерий в загрязненных нефтью почвах (помимо уровней загрязнения) является наличие-отсутствие напочвенного покрова и верхних почвенных горизонтов. Было обнаружено 29 видов цианобактерий и 26 видов водорослей (7 – ксантофитовых и эустигматофитовых, 3 – диатомовых и 16 – зеленых и стрептофитовых). Впервые была представлена схема дигрессии эдафона под влиянием нефти.

В рамках комплексных работ по Программе экологических исследований Э.А. Штиной перед альгологами были поставлены следующие задачи [3]: 1) изучить возможность альгоиндикации степени нарушения и скорости восстановления микробиоты в загрязненных нефтью и пластовыми водами почвах; 2) выявить виды-индикаторы разных видов техногенного воздействия на почву в районах нефтепромыслов.

Для решения первой задачи была проведена серия полевых экспериментов с загрязнением разных типов почв товарной нефтью Сургутского месторождения (с сохранением напочвенного покрова). Результаты для таежной зоны (доза нефти 25 л/м<sup>2</sup>) представлены в таблице 1. Они показывают, что нефть одинаково токсична для микрофототрофов почв и средней, и южной тайги. Однако скорость восстановления группировок микрофототрофов выше в южной тайге, где уже на третий год после заливки нефти общее видовое разнообразие активной микрофлоры составило 53,8% от исходного. Период острого токсического действия нефти для микрофототрофов составляет не менее 3 лет в подзолах средней тайги и 1 год – в дерново-подзолистых почвах южной тайги.

Таблица 1

Число видов водорослей и цианобактерий в верхнем горизонте почв, загрязненных товарной нефтью (активная микрофлора) [4]

Время с момента загрязнения	Цианобактерии	Водоросли			Всего
		Зеленые	Ксантофитовые+ эустигматофитовые	Диатомовые	
Средняя тайга, подзол иллювиально-гумусовый					
Контроль	-	26	1	-	27
3 дня	-	1	-	-	1
2 года	-	2	-	-	2
3 года	-	4	-	-	4

Южная тайга, дерново-подзолистая почва					
Контроль	5	12	7	2	26
4 дня	-	2	-	-	2
2 года	-	10	-	-	10
3 года	1	12	-	1	14

В лабораторных экспериментах с загрязненным нефтью черноземом лесостепной зоны было установлено (табл. 2), что токсичность нефти для микрофототрофов и скорость восстановления их группировок зависят при прочих равных условиях от влажности почвы. При влажности 40% от ПВ скорость восстановления минимальна.

Таблица 2

Численность водорослей и цианобактерий (тыс./г почвы) в черноземе при разных уровнях влажности в лабораторном эксперименте [3]

Время с момента загрязнения	Влажность почвы, % от ПВ	Цианобактерии		Водоросли	
		Контроль	Загрязнение	Контроль	Загрязнение
0	60	2 596,3	3,4	90,9	3,4
8 месяцев	40	977,7	3,4	366,5	3,4
	60	4 852,1	3 149,5	138,1	1 283,8
12 месяцев	80	8 826,1	13 266,5	869,1	2 112,3
	40	1 577,9	822,4	189,0	91,4
	60	7 976,4	3 239,1	272,6	167,9
	80	3 645,9	1 276,5	592,6	803,0

Для решения второй задачи был изучен видовой состав водорослей и цианобактерий в природных условиях на датированных участках механических нарушений почвы и разливов буровых растворов, нефти и минерализованных нефтяных вод. Наиболее детальные исследования были проведены в подзоне южной тайги с дерново-подзолистыми почвами. Впервые было показано, что техногенные изменения почвы вызывают трансформацию альго-цианобактериальных сообществ, характер которой определяется интенсивностью и направлением изменения свойств почвы. Состав альго-цианобактериальных группировок и сообществ в районах нефтепромыслов поэтому может использоваться для биоиндикации техногенных изменений почвы. Список видов-индикаторов разных видов техногенного нарушения дерново-подзолистых почв представлен в таблице 3.

Таблица 3

Индикаторные группы и виды водорослей и цианобактерий техногенно трансформированных дерново-подзолистых почв в районах нефтепромыслов [3, с сокращениями]

Тип техногенного изменения почвы	Индикаторные группы и виды микрофототрофов
Механические нарушения почвы	Различные виды <i>Phormidium</i> и <i>Oscillatoria</i>



Увеличение влажности в связи с поступлением буровых растворов	Гидрофильные виды: <i>Merismopedia punctata</i> , <i>Uronema confervicolum</i> , <i>Tetraedron pentaedricum</i>
Повышение pH из-за поступления буровых растворов	Азотфиксаторы ( <i>Anabaena cylindrica</i> , <i>Nostoc paludosum</i> ), <i>Chroococcus minutus</i> , <i>Phormidium amoenum</i>
Свежее (1-2 года) загрязнение нефтью, сильная битуминизация почвы	Единичные виды одноклеточных зеленых
Старое (20 лет) загрязнение сырой нефтью, переувлажнение почвы	Гидрофильные виды: <i>Rhizoclonium profundum</i> , <i>Cosmarium crenatum</i> , <i>Tribonema viride</i>
Свежее засоление минерализованными водами	Виды засоленных почв: <i>Microcoleus chthonoplastes</i> , <i>Phormidium paulsenianum</i> f. <i>takyricum</i>
Осолонцевание	Вид солоноватых вод <i>Lyngbya aestuarii</i>
Переувлажнение техногенных солонцов	Гидрофильные виды: <i>Aphanocapsa muscicola</i> , <i>Aphanothece salina</i> , <i>Chroococcus minutus</i> , <i>Chroococcus turgidus</i>
Осолодение	Гидрофильные диатомовые: <i>Nitzschia clausii</i> , <i>Nitzschia debilis</i> , <i>Luticola nivalis</i>
Полное разрушение нефти	Развитие желтозеленых и диатомовых, увеличение видового разнообразия всех групп микрофототрофов

Индикационным признаком экстремальных условий произрастания микрофототрофов, находящихся на границе зон толерантности и резистентности, является изменение видового состава. При этом может наблюдаться как полное замещение исходных видов новыми, устойчивыми к данному техногенному воздействию видами, так и «выпадение» чувствительных видов из состава альго-цианобактериальных сообществ и их обеднение. В пределах зоны толерантности численность микрофототрофов хорошо отражает скорость самоочищения почвы от загрязнителей.

Признаком полного разрушения нефти в почве является формирование полночленных альго-цианобактериальных сообществ с высоким видовым разнообразием и высоким уровнем сходства видового состава с составом водорослей и цианобактерий фоновых почв.

Четкая реакция микрофототрофов на техногенные нарушения почвы на ценотическом уровне, продемонстрированная на примере альго-цианобактериальных сообществ районов нефтепромыслов, дает в руки экологам важный инструмент для индикации направлений изменения почв, который можно использовать при изучении почв, трансформированных вследствие самых разных антропогенных воздействий.

Альгоиндикация впервые была применена для оценки эффективности разных приемов рекультивации загрязненных нефтью почв в разных природных зонах [3]. Полученные результаты были использованы для разработки первого научно обоснованного Руководящего документа по рекультивации земель РД 39-0147103-365-86, принятого Министерством нефтяной промышленности СССР в 1987 году.

В ходе исследований Т.А. Ельшиной под руководством Эмилии Адриановны Штиной была выполнена и блестяще защищена кандидатская диссертация [4], которая по уникальности изученных объектов и полученных данных не имеет аналогов до сих пор.

Талантливым продолжением «нефтяной» тематики стала работа Натальи Михайловны Зимониной в Европейском Заполярье [5]. Она отличается экологической направленностью, комплексным подходом и глубиной выводов, что характерно для кировской альгологической школы.

Результаты, полученные по Программе экологических исследований АН СССР в нефтедобывающих районах, были изложены в серии публикаций, обобщены в монографии [3]. Представители кировской школы альгологов внесли неоценимый вклад в развитие альгоиндикации и экологии видов микрофототрофов и – шире – в разработку теории о механизмах устойчивости наземных экосистем к техногенному воздействию.

#### Литература

1. Steubing L. Untersuchungen über die Veränderung der Microflora eines Waldbodens durch eigendrungenes Heizöl//Angew. Bot. – 1976. – Bd. 15, №6
2. Неганова Л.Б., Шилова И.И., Штина Э.А. Альгофлора техногенных песков нефтегазодобывающих районов Среднего Приобья и влияние на нее нефтяного загрязнения//Экология. – 1978. – №3. – С. 29-35
3. Штина Э.А., Некрасова К.А. Водоросли загрязненных нефтью почв // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. – М.:Наука, 1988. – 254 с.
4. Ельшина Т.А. Почвенные водоросли как индикаторы некоторых видов техногенного загрязнения почвы (на примере загрязнений, связанных с нефтедобычей): Автореф. дис....канд. биол. наук. – Л.: ЛГУ, 1986. – 16 с.
5. Зимонина Н.М. Почвенные водоросли нефтезагрязненных земель. – Киров, 1998. – 170 с.

**ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА ПОЛЕВУЮ ВСХОЖЕСТЬ  
И УРОЖАЙНОСТЬ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ  
СОРТОВ БЕЛГОРОДСКИЙ 100 И НУР**

**Емелев С.А.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
k-selex@vgsha.info*

Аннотация. Биопрепараты в современном сельском хозяйстве занимают всё более широкие позиции, особенно в связи с выращиванием экологически чистой (органической) продукции. В промышленных масштабах выпускаются как живые (с малым сроком хранения) препараты: ризоагрин, флавобактерин, псевдобактерин-2, и другие, так и споровые (длительного хранения): азотовит, фосфатовит. Обработка семян ярового ячменя препаратами различного биологического состава является эффективным приемом повышения урожайности.

Ключевые слова: биопрепараты, полевая всхожесть, выживаемость, урожайность, яровой ячмень.

Возделывание культурных растений связано с использованием различных химических веществ (удобрений, пестицидов, регуляторы роста и т.д.). В сельскохозяйственном производстве основными источниками загрязнения являются минеральные и органические удобрения, пестициды, которые применяются при повышенных нормах и дозах, а также при не соблюдении научно-обоснованных норм.

Во всем мире, в том числе и в России в последнее время значительно вырос интерес к проблемам микробиологии в сельском хозяйстве. Особое внимание привлекают биопрепараты полифункционального действия. Основой микробиологических препаратов служат живые культуры микроорганизмов и продукты их метаболизма.

Биопрепараты являются стимулятором корнеобразования (развитие мощной корневой системы) и роста растений, повышают устойчивость растений к болезням путем подавления фитопатогенной микрофлоры, улучшает качество урожая за счет увеличения в них витаминов, белка и незаменимых аминокислот. Инокулянты стимулируют увеличение биомассы растений по фазам вегетации, при этом характер их действия определяется видом используемого препарата, а также штаммом микроорганизмов и сортовыми особенностями растений [1].

На кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии выявлено росторегулирующее и фунгицидное действие биопрепаратов на основе ризосферных бактерий рр. *Pseudomonas* и *Bacillus* [2, 3], а также цианобактерий [4, 5], однако, пока недостаточно изучено влияние биопрепаратов на основе бактерий р. *Azotobacter* на развитие растений ячменя.

В биологической лаборатории филиала Россельхозцентра по Кировской области в настоящее время выпускаются микробиологические препараты: ризоагрин Б, флавобактерин, псевдобактерин-2, микробиологическое фосфорное удобрение и азолен в жидкой форме (ж.ф.).

Компания «Промышленные Инновации» (г. Новомосковск Тульская область) производит микробиологические удобрения азотовит и фосфатовит в жидкой форме [6].

В опыте использовали цианобактерии из музея кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии *Fischerella muscicola*, *Nostoc paludosum*, *N. linckia*, *Microchaeta tenera* [7].

Цель исследования – изучить влияние микробиологических препаратов в жидкой препаративной форме на рост и развитие растений ярового ячменя.

Лабораторные исследования проводились на яровом ячмене сортов Белгородский 100 и Нур урожая 2017 года. Семена обрабатывали в день посева в соответствии с вариантами опыта, приведенными в таблице 1. Концентрация препаратов взята из расчета 1 л/т при наиболее распространенных значениях титра препаратов поступающих в продажу:

- ризоагрин Б (титр  $2-3 \cdot 10^9$  кл./мл);
- псевдобактерин-2, ж.ф. (титр  $2 \cdot 10^9$  кл./мл);
- флавобактерин (титр  $2-4 \cdot 10^9$  кл./мл);
- микробиологическое фосфорное удобрение (МБФУ) (титр  $2-3 \cdot 10^9$  кл./мл);
- азолен, ж.ф. (титр  $4-8 \cdot 10^9$  кл./мл);
- азотовит (титр  $5 \cdot 10^9$  кл./мл);
- фосфатовит (титр  $0,12 \cdot 10^9$  кл./мл);
- цианобактериальный препарат, ж.ф. (ЦБ) (титр  $5 \cdot 10^9$  кл./мл).

Расход рабочей жидкости 20 л/т семян. В контрольном варианте семена сортов Белгородский 100 и Нур обрабатывали водой из расчета 20 л/т.

Сорт Белгородский 100, созданный в ОАО НПФ «Белселект», является стандартом для ярового ячменя Кировской области. Раннеспелый, высокая урожайность, хорошие качественные показатели, засухоустойчивость. Включен в список ценных по качеству сортов.

Сорт Нур, выведенный в НИИСХ Центральных районов Нечерноземной зоны, использовался для сравнительной оценки. Среднеспелый, высокая урожайность, засухоустойчивость средняя. Включен в список ценных по качеству сортов.

Полевые эксперименты проводились в 2018 году на опытном поле «Кропачи» Вятской ГСХА. Почвы участка, на котором проводились исследования, дерново-подзолистые среднесуглинистые. Агротехника в опыте общепринятая для ярового ячменя. Размещение делянок систематическое, учетная площадь –  $4,5 \text{ м}^2$ , повторность 4-х кратная. Норма высева – 5 млн. всхожих семян на 1 га. В  $M_1$  определяли полевую всхожесть и выживаемость растений, урожайность ячменя сортов Белгородский 100 и Нур после воздействия изучаемых факторов.

Для оценки изменчивости количественных признаков определяли основные статистические характеристики, существенность различий между вариантом и стандартом устанавливали с помощью критерия Стьюдента [8].

Результаты исследований показали, что изучаемые препараты оказали стимулирующее действие на полевую всхожесть семян и выживаемость растений ярового ячменя (табл. 1). При этом достоверное увеличение полевой всхожести семян сорта Белгородский 100 по сравнению с контролем отмечено во всех вариантах опыта. Наибольшее значение данного показателя у ячменя Белгородский 100 отмечено под влиянием препарата азотовит – 71,2%. Значимое увеличение полевой всхожести семян Нур по сравнению с контролем отмечено в вариантах азолен, Ж и азотовит – 58,6 и 59,0%.

Таблица 1

Полевая всхожесть семян и выживаемость растений ярового ячменя

Вариант	Количество			
	проросших семян		выживших растений	
	абс.	% к высеванным	абс.	% к взошедшим
<b>Белгородский 100</b>				
Контроль с.з.(20л/т)	318	63,6	290	58,0
Ризоагрин	340	68,0	310	62,0
Псевдобактерин-2,ж	344	68,8	308	61,6
Флавобактерин	334	66,8	302	60,4
МБФУ	343	68,6	305	61,0
Гумат +7	349	69,8	311	62,2
Азолен, ж	336	67,2	302	60,4
Азотовит	356	71,2	330	66,0
Фосфатовит	334	66,8	298	59,6
ЦБ	341	68,2	306	61,2
НСР <sub>0,95</sub>	17,0	—	14,8	—
<b>Нур</b>				
Контроль с.з.(20л/т)	276	55,2	218	43,6
Ризоагрин	287	57,4	227	45,4
Псевдобактерин-2,ж	281	56,2	221	44,2
Флавобактерин	282	56,4	212	42,4
МБФУ	289	57,8	223	44,6
Гумат +7	288	57,6	224	44,8
Азолен, ж	293	58,6	237	47,4
Азотовит	295	59,0	233	46,6
Фосфатовит	286	57,2	226	45,2
ЦБ	284	56,8	224	44,8
НСР <sub>0,95</sub>	16,7		16,8	

Реакция на выживаемость растений сорта Белгородский 100 несколько отличалась от полевой всхожести. Достоверное увеличение этого показателя по

сравнению с контролем наблюдалось только в шести вариантах опыта. Наибольшая выживаемость растений была отмечена под влиянием препарата азотовит – 66,0%. Наибольшая и существенная выживаемость растений сорта Нур была отмечена под влиянием только при обработке семян биофунгицидом азолен, Ж – 47,4%.

На Белгородский 100 необходимо отдавать предпочтение препаратам азотовит и гумат+7, так как они стимулируют формирование растений, как на начальных этапах развития, так и на этапах формирования потомства, что способствует получению большего урожая ячменя. На сорте Нур лучшими препаратами биологического происхождения оказались азолен и гумат+7.

В настоящее время, когда органическое земледелие начинает активно развиваться, то использование биопрепаратов выходит на первый план как в стимуляции развития растений на начальных этапах, так и в последующей защите от вредоносных факторов среды биологического и небиологического происхождения. Кроме того биопрепараты можно использовать и на производстве (пивоварении – приготовление солода): повышая всхожесть семян до нормативов ГОСТ или данного предприятия, а так как они не несут компонентов химических протравителей, стимуляторов роста, то и остаточных количеств (ПДК) в продукции не будет оставаться, а сами микроорганизмы будут уничтожены последующей тепловой обработкой.

Анализируя данные по урожайности кондиционных семян ярового ячменя (табл. 2) можно отметить положительное влияние всех биопрепаратов.

Таблица 2

Урожайность ярового ячменя, т/га

Вариант	Урожайность					
	Белгородский 100			Нур		
	средняя	± к К <sub>сз</sub>	% к К <sub>сз</sub>	средняя	± к К <sub>сз</sub>	% к К <sub>сз</sub>
Контроль с.з.(20л/т)	3,01	—	100,0	2,50	—	100,0
Ризоагрин	3,32	+0,31	110,4	2,48	-0,02	99,0
Псевдобактерин-2,ж	3,30	+0,29	109,6	2,51	+0,01	100,6
Флавобактерин	3,23	+0,22	107,5	2,53	+0,03	101,3
МБФУ	3,26	+0,25	108,4	2,53	+0,03	101,2
Гумат +7	3,35	+0,34	111,3	2,70	+0,20	108,0
Азолен ж	3,27	+0,26	108,7	2,87	+0,37	114,8
Азотовит	3,45	+0,44	114,5	2,65	+0,15	106,0
Фосфатовит	3,19	+0,18	106,1	2,45	-0,05	98,1
ЦБ	3,30	+0,29	109,7	2,48	-0,02	99,1
НСР <sub>0,95</sub>		0,20			0,20	

В 2018 году прибавку на сорте Белгородский 100 более 0,30 т/га (+10%) дали препараты: ризоагрин, гумат+7, азотовит (+0,31 – 0,34 – 0,44 т/га). Практически не оказал эффекта фосфатовит – 3,19 т/га, в то время как урожайность контроля составила 3,01 т/га кондиционных семян. Средняя урожайность по опыту составила 3,27 т/га при уровне внесения 30 кг д.в./га НРК.

Урожайность сорта Нур в 2019 году в контрольном варианте составила 2,50 т/га. Достоверная прибавка урожайности ( $НСР_{0,95} = 0,20$  т/га ) отмечена в вариантах гумат +7 и азолен Ж, (+0,20 и 0,37 т/га).

Средняя урожайность сорта Белгородский 100 по опыту в данном году составила 3,27 т/га, а Нур – 2,57 т/га. Особенностью влияния препаратов является то, что при недостатке минерального питания биопрепараты имели слабую или среднюю стимуляцию на данный показатель и сильно зависит их применение от генотипа сорта. При выращивании в хозяйстве в примерно равных условиях нескольких сортов с разными генотипами уже на начальном этапе развития растений (при учете полевой всхожести) можно предположить насколько тот или иной сорт уступит (превысит) по урожайности другой. Если стоит задача получения зерна для фуражных целей однозначно должен быть выбор за скороспелыми сортами типа Белгородский 100.

Из этого следует вывод, что потребителю необходимо подобрать тот ассортимент биопрепаратов, который будет зависеть от имеющихся возможностей и целей производства: применять при низком уровне – ризоагрин, азотовит, азолен ж, гумат+7.

#### Литература

1. Завалин А.А. Применение биопрепаратов при возделывании полевых культур//Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 8. – С. 9-11.
2. Емелев С.А., Помелов А.В., Новоселов А.В. Влияние микробиологических препаратов на развитие ярового ячменя сорта Нур//Экология родного края: проблемы и пути решения: Сб. материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Книга 1. – Киров: Изд-во ООО «Радуга-ПРЕСС», 2016. – С. 179-184.
3. Емелев С.А., Помелов А.В., Черемисинов М.В., Дудин Г.П. Влияние биопрепаратов на яровой ячмень Белгородский 100//Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров: ВятГУ, 2019. – С. 203-208.
4. Помелов А.В., Ковригин Ю.А., Трефилова Л.В. Влияние микробиологических препаратов на рост растений и развитие корневых гнилей ячменя//Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Материалы II Международной научно-практической конференции, посвященной 105-летию со дня рождения профессора Эмилии Андриановны Штиной. – Киров: Вятская ГСХА, 2015. – С. 227-231.
5. Домрачева Л.И., Козылбаева Д.В., Ковина А.Л., Трефилова Л.В., Зыкова Ю.Н., Грипась М.Н., Изотова В.А. Оптимизация микробиологического состава биопрепарата при выращивании лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.)//Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – №1. – С. 94-101.

6. Микробиологическое удобрение Азотовит, Фосфатовит/Промышленные инновации. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://industrial-innovations.ru>, свободный (дата обращения 25.08.2020).
7. Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Использование почвенных цианобактерий в агрономической практике//Инновационное развитие агропромышленного комплекса как фактор конкурентоспособности: проблемы, тенденции, перспективы: Коллективная монография. – Киров, 2020. – С. 22-39.
8. Моисейченко В.Ф., Трифонова М.В., Заверюха А.Х. и др. Основы научных исследований в агрономии. – М.: Колос, 1996. – 336 с.

**УДК 631.8**

## **ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ БАКТЕРИЗАЦИИ СЕМЯН НА РОСТ И РАЗВИТИЕ *MEDICAGO SATIVA***

**Зыкова Ю.Н., Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В.**  
*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,*  
*nm-flora@rambler.ru*

**Аннотация.** Показана возможность составления биологических препаратов на основе клубеньковых бактерий, цианобактерий и бацилл. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о фитостимулирующем действии трехкомпонентной ассоциации на основе *Rhizobium meliloti* + *Fischerella muscicola* + *Bacillus subtilis*.

**Ключевые слова:** люцерна, ризобиум, цианобактерии, бациллы, стимуляторы роста, биопрепараты.

Люцерна посевная (*Medicago sativa*) является источником протеина и незаменимых аминокислот, обогащает почву биологическим азотом. При коренном улучшении сенокосов и пастбищ люцерна является основной бобовой культурой, отличается долголетием, пастбищевыносливостью, быстрым послеукосным отрастанием [1].

В повышении урожайности и качества бобовых культур, в том числе люцерны, существенную роль играют биопрепараты на основе азотфиксирующих клубеньковых бактерий (КБ) р. *Rhizobium*, которые способны усиливать симбиотическую азотфиксацию, а также супрессировать заболевания растений путем индукции у них устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды [2]. Биопрепараты на основе КБ дают прибавку урожая зеленой массы некоторых видов бобовых на 16-25 т/га [1].

Одним из перспективных направлений в разработке эффективных биопрепаратов является создание искусственных микробных ассоциаций, обладающих экологической поливалентностью.

Интерес к изучению микробных ассоциаций обусловлен тем, что одновидовые системы, как и монокультуры в сельском хозяйстве, мало



устойчивы по своей природе, поскольку в условиях стрессов уязвимы для конкурентов, возбудителей болезней и других факторов, оказывающих влияние на их функционирование в агроценозах [3, 4].

Преимущества применения ассоциативных культур (консорциумов) над чистыми, заключается в многоплановости действия с возможностью целенаправленного управления процессом, повышенной устойчивости к флуктуациям окружающей среды [5, 6].

Для усиления ризогенного эффекта в состав инокулятов возможно включать и другие микроорганизмы, обладающие ростстимулирующим действием на растения. Так, например, цианобактерии (ЦБ) обладают комплексом роста активизирующих веществ и положительно действуют на корневую систему, улучшают плодородие почвы, увеличивают в ней содержание азота, стимулируют активность почвенной биоты благодаря накоплению органических веществ, оказывают фитосанитарный эффект [7].

Таким образом, неоднократно на многих сельскохозяйственных, декоративных и лесных культурах была доказана перспективность использования цианобактерий (ЦБ) как в монокультурах, так и в составе консорциумов с агрономически полезными микроорганизмами, например бактерии р.р. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces* [8, 9, 10].

Цель работы – изучить действие различных микроорганизмов на рост и развитие люцерны посевной.

Объекты и методы. В работе были использованы семена люцерны сорта «Вега-87» московской селекционной станции (1988) пёстрогибридного сортотипа. В условиях Нечерноземной зоны сорт способен формировать два укоса. В Нечерноземной зоне урожайность сухой массы 10-11 т/га, семян – 250-300 кг/га. Период от начала весенней вегетации до первого укоса 44-61 дня, до полного созревания семян около 139 дней. Сорт зимостоек и устойчив к полеганию. Быстро отрастает весной и после укосов. Хорошо растет и развивается на слабокислых и нейтральных почвах.

Для инокуляции семян готовили суспензии на основе различных микроорганизмов:

1. Биопрепарат «Ризоверм» на основе КБ *Rhizobium meliloti* CSAU 1701;
2. ЦБ *Fischerella muscicola* 300, выращивали на среде Громова № 6 без азота. Предварительно суспензию гомогенизировали до однородного состояния в течении 3-х минут на гомогенизаторе (HOMOGENIZER type MPW-302). Титр клеток при внесении составлял  $(5,05 \pm 0,07) \cdot 10^8$  в 1 мл;
3. *Bacillus subtilis* D 26.

При одновременном культивировании микроорганизмов разной систематической принадлежности сложно подобрать оптимальный состав питательной среды для их выращивания, трудно нарастить биомассу до необходимого титра клеток, а затем его стабилизировать. Неизбежно один из компонентов консорциума на определенных этапах начинает доминировать, что связано с разницей в составе сред. Поэтому инокулят готовили непосредственно перед обработкой семян согласно инструкции.

Семена люцерны скарифицировали с использованием наждачной бумаги, затем замачивали на 1 час в жидких суспензиях монокультур, в смешанных двух- и трех компонентных ассоциациях. Суспензии готовили согласно вариантам опыта: 1. Контроль; 2. *Rh. meliloti*; 3. *F. muscicola*; 4. *B. subtilis*; 5. *Rh. meliloti* + *F. muscicola*; 6. *Rh. meliloti* + *B. subtilis*; 7. *F. muscicola* + *B. subtilis*; 8. *Rh. meliloti* + *F. muscicola* + *B. subtilis*.

В контроле для замачивания семян использовали воду «Ключ здоровья». После чего проращивали растения стандартным методом рулонных культур [11].

Всхожесть семян определяли на 7-е сутки (рис. 1).

Показатели всхожести семян люцерны в вариантах опыта 2, 3, 5, 6, 8 варьировали в диапазоне 100-115%, по сравнению с контролем. Наряду с этим всхожесть семян в вариантах 4 и 7 оказалась выше показателей контрольного варианта (на 7-10%), но ниже (на 10-15%) чем в вариантах с инокуляцией семян КБ.

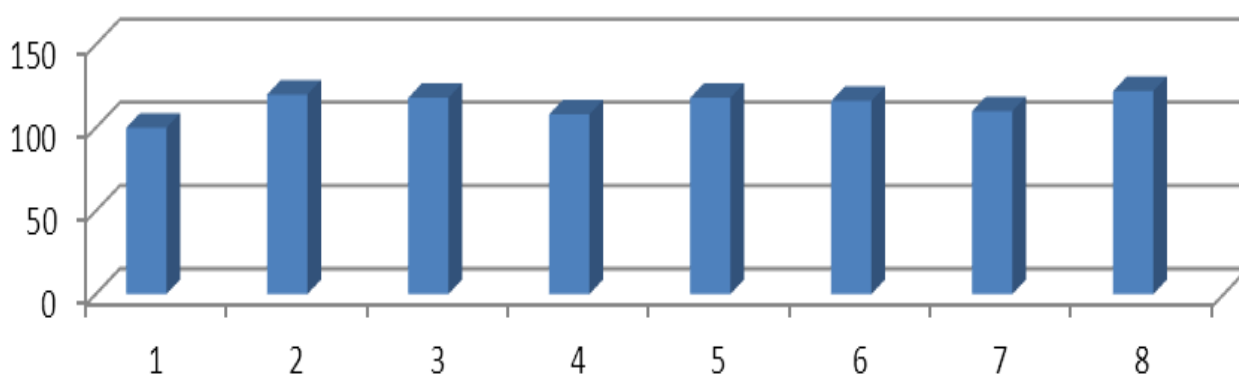


Рисунок 1 – Влияние предпосевной обработки семян на всхожесть люцерны, в % к контролю. Варианты: 1 – Контроль; 2 – *Rh. Meliloti*; 3 – *F. muscicola*; 4 – *B. subtilis*; 5 – *Rh. meliloti* + *F. muscicola*; 6 – *Rh. meliloti* + *B. subtilis*; 7 – *F. muscicola* + *B.s subtilis*; 8 – *Rh. meliloti* + *F. muscicola* + *B. subtilis*.

Анализ морфометрических показателей проростков и корней люцерны проводили на 10-е сутки (рис. 2; табл. 1).

Показатель длины корней в вариантах с обработкой семян монокультурой *Rh. meliloti*, а также двухкомпонентной ассоциацией на основе *Rh. meliloti* + *F. muscicola* и трехкомпонентной ассоциацией на основе *F. muscicola* + *Rh. meliloti* + *B. subtilis* достоверно превышал контроль на 24,0, 31,0 и 38,7%, соответственно. В этих вариантах наблюдали достоверное увеличение высоты проростков растений на 83,3, 88,8 и 118,5% соответственно вариантам.



1. Контроль



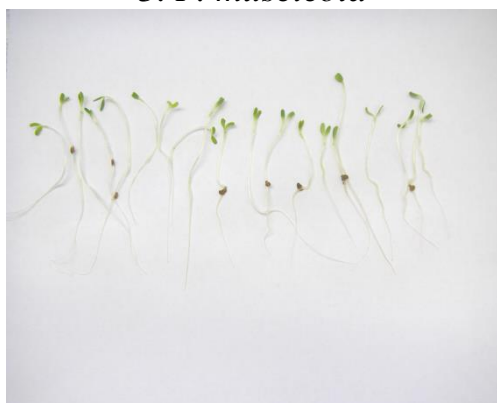
2. *Rh. meliloti*



3. *F. muscicola*



4. *B. subtilis*



5. *Rh. meliloti* + *F. muscicola*



6. *Rh. meliloti* + *B. subtilis*



7. *F. muscicola* + *B. subtilis*



8. *Rh. meliloti* + *F. muscicola* + *B. subtilis*

Рисунок 2 – Влияние бактеризации семян люцерны на развитие проростков

Таблица 2

Влияние предпосевной обработки семян люцерны на морфометрические показатели растений

Вариант	Длина корней, см	Высота проростков, см
1. Контроль	1,29±0,09	0,54±0,05
2. <i>Rh. meliloti</i>	1,69±0,11	1,02±0,08
3. <i>F. muscicola</i>	1,51±0,07	0,80±0,08
4. <i>B. subtilis</i>	1,46±0,10	0,87±0,07
5. <i>Rh. meliloti</i> + <i>F. muscicola</i>	1,60±0,08	0,99±0,07
6. <i>Rh. meliloti</i> + <i>B. subtilis</i>	1,57±0,04	0,97±0,06
7. <i>F. muscicola</i> + <i>B. subtilis</i>	1,53±0,11	0,91±0,07
8. <i>Rh. meliloti</i> + <i>F. muscicola</i> + <i>B. subtilis</i>	<b>1,79±0,09</b>	<b>1,18±0,09</b>

Примечание: жирным шрифтом выделены максимальные значения.

Действие двух- и трехкомпонентных ассоциаций на основе *F. muscicola* и *Rh. meliloti* (варианты опыта 5 и 6) существенно не отличалось между собой по показателю длины корня, тогда как по высоте проростков отмечали выраженное стимулирующее действие трехкомпонентной ассоциации.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о фитостимулирующем действии одно-, двух- и трехкомпонентной ассоциаций на основе *Rh. meliloti*, *F. muscicola*, *Bacillus subtilis* для предпосевной обработки семян люцерны посевной. Показана возможность составления бактериальных препаратов на основе ассоциаций нескольких видов агрономически полезных микроорганизмов.

Однако, полученные данные требуют проведения дальнейших исследований в серии лабораторных, вегетационных, а также полевых опытов для изучения перспективности использования полученных ассоциаций в разных условиях, на других сельскохозяйственных культурах для создания биопрепаратов нового поколения.

#### Литература

1. Пташец О.В. Способы регулирования ростовых процессов люцерны посевной//Мелиорация. – 2013. – №1(69). – С. 162-170.
2. Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Опыт применения препаратов клубеньковых бактерий для повышения продуктивности бобовых культур//Экология родного края: проблемы и пути их решения: Сб. матер. XII Всеросс. научн.-практич. конф. с международ. уч. – 2017. – С. 293-298.
3. Панкратова Е.М., Зяблых Р.Ю., Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли *Nostoc paludosum* Kütz.//Альгология. – 2004. – Т. 14. № 4. – С. 445-458.

4. Pankratova Je.M., Zyablykh R.J., Kalinin A.A., Kovina A.L., Trefilova L.V. Designing of microbial binary cultures based on blue-green algae (Cyanobacteria) *Nostoc paludosum* Kütz.//International Journal on Algae. – 2004. 6 (3). – P. 290-304.
5. Трефилова Л.В., Зяблых Р.Ю., Ковина А.Л., Калинин А.А. Эффективность циано-бактериальных консорциумов при выгонке рассады капусты в защищенном грунте//Всеросс. научн.-практ. конф. ученых и спец. АПК: «80 лет с.-х. образованию и науки на Урале: Итоги и перспективы»: Аграрный вестник. – Пермь, 1998. – Вып. 11. – С. 116-117.
6. Ковина А.Л. Микробные агроконсорциумы на основе цианобактерий: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Москва, 2001. – 23 с.
7. Трефилова Л.В. Использование цианобактерий в агробιοтехнологии. Автореф. дисс. на соискание уч. степени к.б.н. – Саратов, 2009. – 25 с.
8. Товстик Е.В., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Калинин А.А. Использование *Rhizobium meliloti*, *Fischerella muscicola* и *Streptomyces wedmorensis* как биостимуляторов растений//Почвы и их эффективное использование: Матер. международ. науч.-практич. конф. – Ч. 2. – Киров: Вятская ГСХА, 2018. – С. 209-217.
9. Козылбаева Д.В., Малыгина О.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Домрачева Л.И., Товстик Е.В. Влияние бактериальной инокуляции семян лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus*) на морфометрические показатели//Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: материалы XV Всероссийской науч.-практич. конф. с международ. участием. – Книга 2. – Киров: ВятГУ, 2017. – С. 117-122.
10. Зыкова Ю.Н., Ковина А.Л., Трефилова Л.В., Шабалина А.В. Использование биопрепаратов для улучшения качества рассады декоративных растений//Научные инновации – аграрному производству: материалы Междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 100-летию юбилею Омского ГАУ. – Омск, 2018. – С. 823-827.
11. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями № 1, 2, с Поправкой).

**УДК 579.64**

## **ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ БИОАГЕНТОВ ДЛЯ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН**

**Изотова В.А.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева*

Аннотация. Представлены результаты лабораторных исследований по изучению влияния цианобактерий и лишайников на подавление фитопатогена *Fusarium culmorum*, рост и развитие пшеницы. Отмечено антифунгальное действие цианобактерии *Fischerella muscicola*.

Ключевые слова: фитопатогены, фузариум, пшеница, лишайники, цианобактерии.

Агротехнологии, основанные на достижениях науки, могут обеспечить эффективное функционирование экосистемы в целом. Снижение применения пестицидов и антропогенных нагрузок на окружающую среду необходимо для эффективного использования природных ресурсов.

Основной стратегической задачей при этом является широкое использование биологических методов, как для защиты растений, так и для эколого-биологического контроля вредных организмов в посевах. Для снижения численности фитопатогенов используют микроорганизмы разной систематической принадлежности: вирусы, бактерии, водоросли, грибы, простейшие [1]. Инсектицидная и антагонистическая активность микроорганизмов к вредителям или возбудителям болезней сельскохозяйственных культур позволяет конструировать одно- и многовидовые биопрепараты с широким спектром действия [2]. Биопрепараты для защиты растений экологически безопасны так как создаются на основе биоагентов, выделенных из окружающей среды, которые являются частью круговорота веществ в природе [3]. Уникальная способность многих микроорганизмов к саморегуляции, в частности снижение или уменьшение их численности позволяет контролировать и даже ингибировать популяции фитофагов или возбудителей болезней. Тем самым использование биоагентов для создания препаратов для защиты растений не приводит к нарушению микробиоты природных объектов. При производстве биопрепаратов наиболее высокоактивные микроорганизмы выделяют из природной среды, размножают в искусственных условиях и тестируют их эффективность.

Цианобактерии (ЦБ) универсальные и перспективные объекты для биотехнологии [4]. Среди экзометаболитов ЦБ есть биологически активные соединения (витамины, ростстимулирующие вещества), которые синтезируются гораздо быстрее и в больших количествах при благоприятных условиях культивирования, по сравнению с эукариотами. Ранее нами было показано что биоудобрения на основе ЦБ стимулируют нарастание биомассы вегетативных органов, увеличивают плодоношение, повышают стрессоустойчивость растений, а также ингибируют фитопатогены [5].

Цель работы – сравнить антифунгальное действие биоагентов на фоне инфицированных семян.

Для посева обычно отбирают визуально здоровые выполненные, полноценные семена, затем проводят микробиологический анализ эпифитной микрофлоры среди которой встречаются опасные микроорганизмы.

Поэтому семена перед посевом обеззараживают разными способами. Но при попадании в почву они неизбежно инфицируются аборигенной микрофлорой. Для предпосевной инокуляции семян мы предлагаем использовать биоагенты, которые ингибируют фитопатогены, но безопасны для окружающей среды.

Для анализа эффективности биоагентов брали семена пшеницы сорта Ирень [8].

В качестве биоагентов для инокуляции семян применяли:

- лишайник *Hypogymnia physodes*, этот вид ранее использовали для диагностики атмосферного загрязнения в районе функционирования объекта по хранению и уничтожению химического оружия [9]. Семена обрабатывали приготовленной на основе лишайника суспензией.

- ЦБ *Fischerella muscicola* шт. 300 из коллекции микроорганизмов кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА. Ранее этот вид ЦБ показал свою эффективность при предпосевной обработке семян сельскохозяйственных, декоративных и хвойных растений [10]. ЦБ использовали в виде гомогенизированной суспензии клеток с титром  $9,8 \cdot 10^6$  кл./мл;

Для инфицирования семян пшеницы мы использовали *Fusarium culmorum* из коллекции фитопатогенов кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА.

Среди болезней растений представителей семейства Злаковые (мятликовые) встречается фузариоз, возбудителями которого нередко бывают представители класса Deuteromycetes (Fungiimperfecti), группа порядков Nuyphomycetales, порядок Moniliales, семейство Tuberculariaceae, род *Fusarium*. Грибы из р. *Fusarium* по своему жизненному циклу относятся к организму, признаками которого являются формирование специальных покоящихся структур (склероциев, хламидоспор) для длительного (6-7 лет) выживания в почве, способность размножаться конидиями и распространяться воздушно-капельным путем. Значительную роль в супрессивности почв играет жизнеспособность фитопатогена, его узкая первичная экологическая ниша – корни, сосудистопроводящие пучки растения, однако он может расширять свое местообитание и переходить на надземные органы.

В контрольном варианте семена замачивали в артезианской воде. В остальных вариантах семена инфицировали грибом *F. culmorum* методом опудривания. Затем обрабатывали их согласно вариантам опыта:

- 1 – контроль (без обработки);
- 2 – *F. culmorum*;
- 3 – *F. culmorum* + *H. physodes*;
- 4 – *F. culmorum* + *F. muscicola*;

Анализ результатов показал низкую всхожесть семян в вариантах где семена были инфицированы *F. culmorum* – 67%, и где инфицированные семена были обработаны *H. physodes* – 72%, кроме варианта с инокуляцией инфицированных семян ЦБ, где всхожесть превысила контрольные показатели на 4%.

Таблица 1

Влияние биоагентов на всхожесть и зараженность семян пшеницы.

№ п/п	Варианты	Всхожесть, %	Зараженность, %
1	Контроль (без обработки)	87	4
2	<i>F. culmorum</i>	67	98

3	<i>F. culmorum</i> + <i>H. physodes</i>	72	65
4	<i>F. culmorum</i> + <i>F. muscicola</i>	91	24

Обработка семян микроорганизмами и препаратами оказала ингибирующее действие на развитие *F. culmorum*. Наиболее эффективны оказались ЦБ, где количество инфицированных проростков было – 24 %.

Анализ морфометрических характеристик растений показал не только фунгистатическое действие проведенных обработок, но и некоторую стимуляцию роста, как корневой системы, так и надземной части относительно контроля, так явный ризогенный эффект наблюдали при обработке семян ЦБ – на 9 %.

Таблица 2

Влияние микроорганизмов на развитие проростков пшеницы

№ п/п	Варианты	Длина корней, мм	Высота проростков, мм
1	Контроль (без обработки)	12,87±3,09	14,59±1,02
2	<i>F. culmorum</i>	7,40±1,28	5,9±0,25
3	<i>F. culmorum</i> + <i>H. physodes</i>	10,40±5,28	13,02±2,25
4	<i>F. culmorum</i> + <i>F. muscicola</i>	14,04±0,84	14,17±1,76

Морфометрические параметры растений остальных вариантов были значительно ниже контроля без обработки, но все же выше по сравнению с вариантом, где семена были инфицированы, но не обработаны антифунгальными агентами. Обработка инфицированных семян пшеницы суспензией лишайника не показала ростстимулирующего эффекта.

Таким образом, результаты исследований позволяют сделать вывод о целесообразности обработки семенного материала с целью подавления развития фузариоза суспензией ЦБ *F. muscicola*.

#### Литература

1. Трефилова Л.В., Зыкова Ю.Н., Леонова К.А., Кузнецова А.А. Сравнительный анализ ростстимулирующих биопрепаратов на основе различных групп микроорганизмов//Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Матер. XIV Всерос. научн.-практич. конф. с международ. уч. – Кн. 2. – Киров: ООО «Изд-во «Радуга-ПРЕСС», 2016. – С. 399-403.
2. Изотова В.А., Трефилова Л.В. Роль агробиопрепаратов в системе рационального природопользования// XIX Экологические проблемы природо- и недропользования: Труды международной молодежной научной конференции. Том XIX / Под ред. В. В. Куриленко. – СПб.: СПбГУ, 2019. – С. 152-156.
3. Ковина А.Л., Трефилова Л.В., Домрачева Л.И., Субботина Е.С., Казакова Д.В. Роль цианобактерии *Fischerellamuscicola* в эффективности симбиоза между лядвенцем рогатым и клубеньковыми бактериями//Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Матер. XII Всерос.



науч.-практич. конф. с междунар. участием. Кн. 1. – Киров: Изд-во ООО «Веси», 2014. – С. 278-281.

4. Зыкова Ю.Н., Короткова А.В., Трефилова Л.В. Изучение ростстимулирующей активности цианобактерий на декоративной культуре циния изящная (*Zinnia elegans* Jacq.)//Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Матер. II Международ. конф. – Киров: ВятГСХА, 2015. – С. 156-159.

5. Козылбаева Д.В., Малыгина О.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Домрачева Л.И., Товстик Е.В. Влияние бактериальной инокуляции семян лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus*) на морфометрические показатели//Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: матер. XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Кн. 2. – Киров: ВятГУ, 2017. – С. 117-122.

6. Pankratova Je. M., Zyablykh R. J., Kalinin A. A., Kovina A. L., Trefilova L.V. Designing of microbial binary cultures based on blue-green algae (Cyanobacteria) *Nostoc paludosum* Kütz.//International Journal on Algae. – 2004, 6 (3). – P. 290-304.

7. Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Короткова А.В. Эффективность различных технологий предпосевной обработки семян бобовых культур//Актуальные проблемы селекции и технологии возделывания полевых культур / Матер. IV Всерос. научн.-практич. конф. с междунар. уч. / Сб. науч. тр. Киров: ВятГСХА, 2017. – С. 49-52.

8. Домрачева Л.И., Козылбаева Д.В., Ковина А.Л., Трефилова Л.В., Зыкова Ю.Н., Грипась М.Н., Изотова В.А. Оптимизация микробиологического состава биопрепарата при выращивании лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.)//Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – №1. – С. 94-101.

9. Малинина А.И., Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Домнина Е.А. Особенности эпифитной микрофлоры различных видов листоватых лишайников//Экология родного края: проблемы и пути их решения: Матер. XIV Всерос. научн.-практич. конф. с междунар. уч. – Киров: ВятГУ, 2019. – С. 231-235.

**УДК 579.222**

## **ПОДАВЛЕНИЕ ФУЗАРИОЗНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРОБОВ - АНТАГОНИСТОВ**

**Калинин А.А.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
nm-flora@mail.ru*

Аннотация. Исследовали влияние биоагентов *Nostoc paludosum* и *Bacillus subtilis* на подавление фузариозной инфекции. В качестве тест-организма использовали пшеницу. Анализ результатов показал перспективность использования комбинаций микробов-антагонистов для подавления фузариозных инфекций сельскохозяйственных культур, включающих как

фототрофные бактерии (цианобактерии), так сапротрофные спорообразующие бактерии-гидролитики (биопрепарат «Экстрасол»).

Ключевые слова: цианобактерии, биоагенты, фузариум, пшеница.

Гибель сельскохозяйственных культур и снижение качества сельскохозяйственной продукции часто происходит из-за накопления в ней фузариотоксинов. Для борьбы с грибными инфекциями применяются как химические, так и биологические препараты [1-5]. Однако применение химических методов защиты растений связано с опасностью загрязнения окружающей среды.

Поэтому в наше время внимание исследователей направлено на активный поиск оптимальных способов подавления эпифитотий с помощью микробов-антагонистов [6-10]. Среди наиболее перспективных направлений микробиологических приёмов защиты растений выделяется применение не только одианрных, но и комплексных биопрепаратов, в которых проявляется синергический эффект взаимодействия партнёров.

Цель нашей работы: поиск наиболее эффективных микробов-антагонистов для подавления фузариозной инфекции.

Для исследования выбрали пшеницу сорта Иргина. Ростовая среда (инокуляционная система), в которую помещали растения, включала следующие варианты: 1. Контроль - без обработки (дистиллированная вода). 2. Инфицирование семян культурой фитопатогена *Fusarium culmorum*. 3. Обработка инфицированных семян культурой цианобактерии *Nostoc paludosum* (Kütz) шт. 18, из коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры ботаники, физиологии растений и микробиологии ВГСХА. 4. Обработка инфицированных семян сертифицированным биопрепаратом «Экстрасол» в жидкой форме на основе ризосферных бактерий *Bacillus subtilis* Ч13. 5. Обработка инфицированных семян «Экстрасолом» и *Nostoc paludosum*.

При постановке опыта откалиброванные семена пшеницы в количестве 100 штук раскладывали на полосках влажной фильтровальной бумаги, закрывали второй полоской, скручивали в рулоны и ставили в пластиковые контейнеры с крышкой. На дно контейнеров наливали по 100 мл соответствующей жидкости, содержащей культуры микроорганизмов. Наблюдения над растениями проводили дважды: на 3-и сутки определяли энергию прорастания; на 7-е - подсчитывали количество погибших растений, измеряли длину корней и высоту проростков.

Определение энергии прорастания показало, что этот показатель находится на одном уровне с контролем во всех вариантах, кроме последнего, где для инокуляции была использована тройная смесь – фитопатоген и оба микроба-антагониста (табл. 1). Вероятно, наблюдаемое угнетение может быть вызвано усиленным синтезом биологически активных веществ в ходе устанавливаемых контактов между самими антагонистами.

Таблица 1

## Энергия прорастания семян пшеницы

Вариант	Энергия прорастания, %
1. Контроль (дистиллированная вода)	86
2. <i>Fusarium culmorum</i>	84
3. <i>Fusarium culmorum</i> + <i>Nostoc paludosum</i>	89
4. <i>Fusarium culmorum</i> +«Экстрасол»	86
5. <i>Fusarium culmorum</i> + <i>Nostoc paludosum</i> + «Экстрасол»	64

Однако, на 7-е сутки, когда, как правило, определяют всхожесть семян, картина состояния растений резко изменилась. В варианте с инфицированием семян фузариумом поражение корневой системы было отмечено у 67% растений и выживших растений было намного меньше, чем в других вариантах (табл. 2).

Таблица 2

## Влияние микробов-антагонистов на развитии инфицированных растений пшеницы (7-е сутки)

Вариант	Гибель растений, %	Высота проростков, см	Длина корней, см
1. Контроль	36	13,23±23	6,59±0,28
2. <i>Fusarium culmorum</i>	67	8,87±0,82	4,76±0,29
3. <i>Fusarium culmorum</i> + <i>Nostoc paludosum</i>	36	4,53±1,65	5,14±0,93
4. <i>Fusarium culmorum</i> +«Экстрасол»	31	7,95±1,41	10,98±0,88
5. <i>Fusarium culmorum</i> + <i>Nostoc paludosum</i> + «Экстрасол»	33	10,93±1,47	21,6±1,36

Анализируя результаты, приведённые в таблице 2, можно отметить, что происходит снижение эффекта угнетения растений по сравнению с контролем во всех вариантах, где инфицированные семена обрабатывали культурами микробов - антагонистов. В первую очередь, данный эффект проявляется в снижении гибели растений. Использование бинарной культуры (5-й вариант) стимулировало интенсивность роста инфицированных растений пшеницы, хотя в вариантах с использованием одинарных культур (3-й и 4-й) при существенно меньшей гибели растений ростовые параметры ниже, чем во 2-м варианте (инфицирование семян фитопатогенным грибом).

Таким образом, предварительные данные лабораторных опытов указывают на перспективность использования комбинаций микробов-антагонистов для подавления фузариозных инфекций сельскохозяйственных культур, включающих как фототрофные бактерии (*Nostoc paludosum*), так сапротрофные спорообразующие бактерии-гидролитики *Bacillus subtilis* (биопрепарат «Экстрасол»).

## Литература

1. Pankratova, R. J. Zyablykh, A. A. Kalinin, A. L. Kovina, L.V. Trefilova. Designing of microbial binary cultures based on blue-green algae (Cyanobacteria) *Nostoc paludosum* Kütz.//International Journal on Algae. – 2004, 6 (3). – P. 290-304.
2. 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.
3. Трефилова Л.В. Использование цианобактерий в агробιοтехнологии: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Саратов, 2008. – 26 с.
4. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В., Зяблых Р.Ю., Устюжанин И.А. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kütz как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий р. *Rhizobium*//Микробиология. – 2008. – Т. 77. №2. – С. 266-272.
5. Pankratova E.M., Trefilova L.V., Zyablykh R.Yu., Ustyuzhanin I.A. Cyanobacterium *Nostoc paludosum* Kütz as a basis for creation of agriculturally useful microbial associations by the example of bacteria of the genus *rhizobium*//Microbiology (Mikrobiologiya). – 2008. – Т. 77. № 2. – С. 228-234.
6. Гайфутдинова А.Р., Домрачева Л.И., Трефилова Л.В. Перспективы использования *Fisherella muscicola* и азиды натрия для подавления развития *Fusarium solani*//Теоретическая и прикладная экология. – 2013. – №2. – С. 67-75.
7. Горностаева Е.А., Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Перспективы биотехнологического использования цианобактерий//Биотехнология – от науки к практике. – Матер. Всерос. конф. с междунар. участием. – Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 98-101.
8. 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.
9. 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. 31-41.
10. Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Использование почвенных цианобактерий в агрономической практике//Иинновационное развитие агропромышленного комплекса как фактор конкурентоспособности: проблемы, тенденции, перспективы: Коллективная монография. – Киров, 2020. – С. 22-39.

**ВЛИЯНИЕ *NOSTOC MUSCORUM* И ЛИГНОГУМАТА  
НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И РОСТ ЯЧМЕНЯ**

**Коваль Е.В.<sup>1</sup>, Огородникова С.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Государственный аграрный университет Северного Зауралья,  
*undina2-10@yandex.ru*

<sup>2</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, *Svetao\_05@mai.ru*

Аннотация: Изучено влияние цианобактерии *Nostoc muscorum* и гуминового препарата Лигногумат (ЛГ) на растения ячменя. Установлено, что предпосевная обработка семян ЦБ *N. muscorum* и ЛГ оказывали стимулирующее действие на растения ячменя, которое проявлялось в снижении интенсивности процессов перекисного окисления липидов, накоплении веществ с антиоксидантными свойствами (каротиноиды, антоцианов) и хлорофиллов. Выявлено ростактивирующее действие ЦБ и ЛГ на растения ячменя.

Ключевые слова: ячмень, Лигногумат, *N. muscorum*, малоновый диальдегид, пигменты, рост.

Для повышения продуктивности и устойчивости растений к различным негативным факторам среды (загрязнение, засуха, засоление и т.д.) применяются различные гуминовые препараты [1, 2]. Доказано, что привнесение препарата Лигногумат (ЛГ) повышает качество, урожайность и иммунитет сельскохозяйственных культур [3].

Наряду с гуминовыми препаратами, в растениеводстве применяются биопрепараты на основе цианобактерий (ЦБ). Ряд ЦБ проявляют свойства схожие с действием на растения ЛГ. Для цианобактериальных препаратов характерны росто- и иммуностимулирующее действие, фунгицидные свойства, способность улучшать жизнедеятельность растений [4].

Целью работы было изучить влияние цианобактерии *N. muscorum* и ЛГ на растения ячменя.

Опыты проводили с альгологически чистой культурой цианобактерии *N. muscorum*, которая предоставлена музеем фототрофных микроорганизмов кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА. Возраст культуры ЦБ – 5 недель, титр –  $2,7 \cdot 10^7$  кл./мл. Изучали действие ЦБ и ЛГ на растения ячменя двурядного сорта Новичок (*Hordeum distichum* L.).

Семена ячменя проращивали в чашках Петри в присутствии ЦБ и без них. Затем проростки пересаживали в сосуды на питательный раствор Кнопа (контроль) и в раствор ЛГ (1 г/л) приготовленный на растворе Кнопа. Оценивали влияние ЛГ и ЦБ на биохимические показатели и рост ячменя в фазу 2-х листьев. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) изучали по накоплению малонового диальдегида [5]. Экстракцию и количественное определение антоцианов проводили по методике [6].

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) – процесс окислительного повреждения липидов, который происходит под действием свободных радикалов и является одним из симптомов окислительного стресса в растительных клетках. В норме ПОЛ поддерживается на определенном уровне за счет эффективной работы антиоксидантной системы.

Достоверных различий в содержании малонового диальдегида (МДА) – продукта ПОЛ, в листьях ячменя под воздействием ЦБ *N. muscorum* и ЛГ не установлено (рис. 1). Отмечена тенденция уменьшения интенсивности процессов ПОЛ в листьях ячменя, выращенного в присутствии ЛГ. По сравнению с надземными органами, интенсивность процессов ПОЛ в корнях опытных растений изменялась в большей степени. Добавка ЦБ *N. muscorum* приводила к снижению МДА на 49% от контрольного значения. Уменьшение интенсивности процессов ПОЛ в корнях ячменя может быть связано с поступлением веществ с антиоксидантной активностью. Известно, что в составе экзометаболитов ЦБ присутствуют вещества, которые проявляют антиоксидантные свойства [7]. Совместное влияние ЦБ и ЛГ на ячмень вызывало активацию процессов ПОЛ в корнях. Это может быть связано с комплексным действием на корни ЛГ, ЦБ и экзометаболитов ЦБ и направлено на адаптацию растений к условиям произрастания.

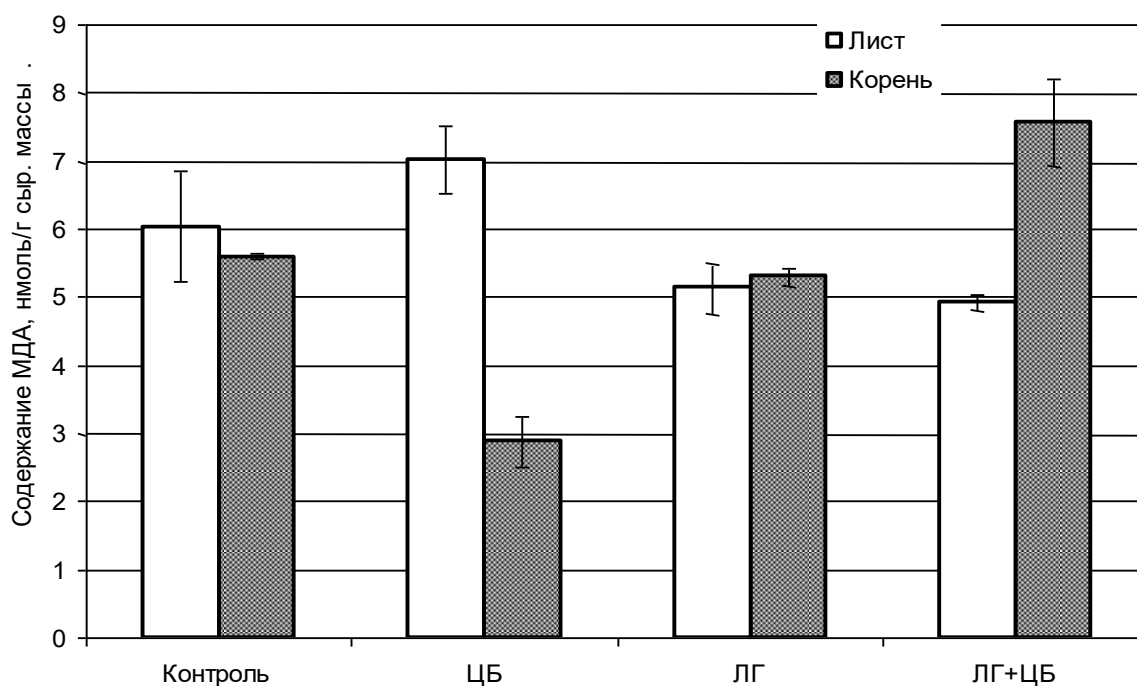


Рисунок 1 – Влияние Лигногумата и цианобактерии *Nostoc muscorum* на активность перекисного окисления липидов в листьях и корнях ячменя

Среди биохимических показателей состояния растений определенное значение имеет содержание веществ с антиоксидантной активностью, к которым относятся каротиноиды и антоцианы. В большей степени рост накопления каротиноидов и антоцианов отмечен в опытах с действием ЛГ (ЛГ и ЛГ+ЦБ) (табл.). В этих же вариантах опыта установлено снижение

интенсивности процессов ПОЛ в листьях. Выявленные биохимические изменения в листьях свидетельствуют об активации антиоксидатной системы в клетках под влиянием ЛГ.

О фитостимулирующем действии ЛГ и ЦБ на растения ячменя можно судить по содержанию в листьях фотосинтетических пигментов – хлорофиллов. Содержание суммы хлорофиллов в листьях опытных растений было выше, чем в контроле (табл.). Рост уровня зеленых пигментов происходил в основном за счет хлорофилла б. Повышение содержания хлорофиллов может являться общей адаптивной реакцией растений ячменя на присутствие в среде выращивания ЦБ и ЛГ.

Таблица

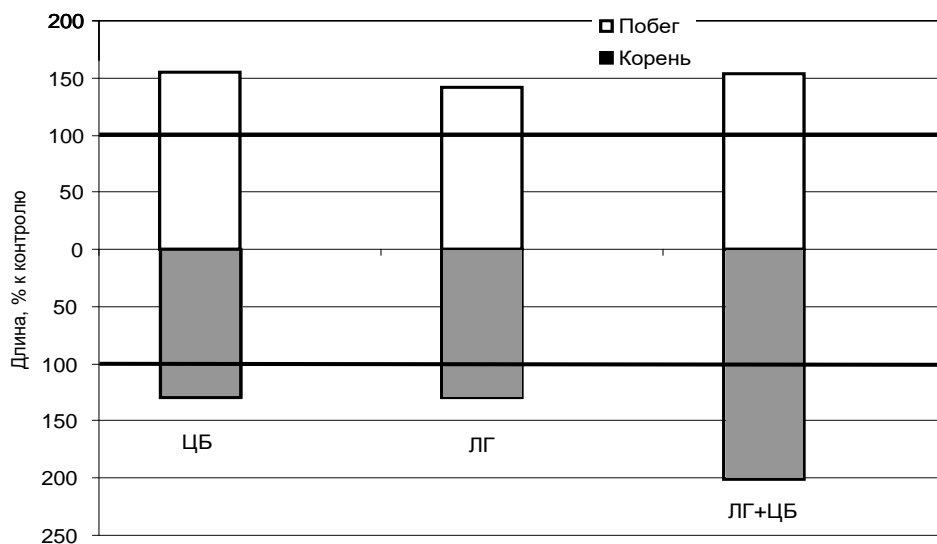
Влияние Лигногумата и цианобактерии *Nostoc muscorum* на содержание пигментов в листьях ячменя

Вариант	Пластидные пигменты, мг/г сухого вещества			Антоцианы, %
	хлорофиллы		каротиноиды	
	а	б		
Контроль	6,65±0,14	2,51±0,50	1,60±0,03	0,039±0,0029
ЦБ	7,05±0,38	2,80±0,19	1,49±0,07*	0,054±0,0034*
ЛГ	6,81±0,52	2,86±0,40	1,84±0,13*	0,077±0,0092*
ЛГ+ЦБ	6,67±0,32	2,78±0,05	1,73±0,16*	0,058±0,0082*

Примечание: здесь и далее \* – различия достоверны при  $p < 0.05$ .

Рост растений является результатом биохимических и физиологических процессов в клетках. Обработка семян ЦБ *N. muscorum*, как и ЛГ, стимулировала процессы линейного роста органов ячменя (рис. 2). В большей степени ростактивирующее действие на растения ячменя проявилось на корнях в варианте с совместным действием ЛГ и ЦБ *N. muscorum*.

Рисунок 2 – Влияние Лигногумата и цианобактерии *Nostoc muscorum* на линейный рост растений ячменя



Таким образом, инокуляция семян ЦБ *N. muscorum* оказывала ростстимулирующее действие на растения ячменя, усиливала свойства ЛГ. В листьях ячменя отмечено снижение интенсивности процессов ПОЛ, выращенных с использованием ЦБ с ЛГ. Вероятно, это связано с активацией антиоксидантной системы растений, что проявилось в накоплении антоцианов и каротиноидов. Инокуляция семян *N. muscorum* и использование ЛГ способствовала росту, как корней, так и побегов ячменя. Выявленные особенности действия *N. muscorum* и ЛГ могут быть использованы для разработки биопрепарата с ростстимулирующей активностью.

#### Литература

1. Неверова О.А., Егорова И.Н., Жеребцов С.И., Исмагилов З.Р. Влияние гуминовых препаратов на процесс прорастания и активность амилолитических ферментов семян *Sinaps alba* L.//Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 6 (104). – С. 43-46.
2. Коновалов А.С. Оценка детоксикации гуматами растворов соли мышьяка методами биотестирования//Acta Biomedica Scientifica. – 2013. – №2 (1). – С. 115-119.
3. Перминова И.В., Жилин Д.М. Гуминовые вещества в контексте зеленой химии//Зеленая химия в России. – 2004. – С. 146-162.
4. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Третьякова А.Н., Гребнева О.И., Дудолодова Г.М. Биологическая защита сеянцев от болезней в питомниках//Леса Кировской области/ред. Видякин А.И., Ашихмина Т.Я., Новосёлова С.Д. – Киров: ОАО «Кировская областная типография», 2008. – С. 292-299.
5. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 208 с.
6. Муравьева Д.А. Бубенчикова В.Н., Беликов В.В. Спектрофотометрическое определение суммы антоцианов в цветках василька синего/Фармация. – 1987. – №5. – С. 28-29.
7. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю. Влияние цианобактерии *Nostoc paludosum* и ее экзометаболитов на рост ячменя//Принципы экологии. – 2019. – № 3. – С. 106-116.

**УДК 581.1**

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ РАССАДЫ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ**

**Козылбаева Д.В.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
nm-flora@mail.ru*

Аннотация: Изучено влияние цианобактерий и регуляторов роста Циркон и Эпин-экстра, на формирование рассады лаватеры «Рубиновый ковер»,



душистого горошка «Драгоценность» и настурции вьющейся «Вспышка». Исследования показали неоднородную отзывчивость трех растений на предпосевную обработку различными биоагентами. Препараты Циркон и Эпин-экстра в первые две недели после посева оказывали стимулирующее действие на развитие проростков, затем влияние было незначительно. Инокуляция семян суспензией *F. muscicola* и смесью ЦБ оказала более стабильный ростстимулирующий эффект.

Ключевые слова: эпин-экстра, циркон, цианобактерии, горошек, настурция, лаватера, ростстимулирующее действие.

Цветочное оформление является одним из ключевых элементов благоустройства городских территорий, которое требует значительных трудовых и финансовых затрат. Создание цветника невозможно без выращивания рассады. На этом этапе садоводы и озеленители сталкиваются с определенными рисками: низкая всхожесть семян и гибель рассады при высадке в открытый грунт. Пробуждению семян и повышению жизнеспособности способствует предпосевная обработка ростстимулирующими препаратами. Применение стимуляторов в цветоводстве повышает декоративные свойства растений. На современном рынке представлен огромный спектр стимуляторов роста, среди них большой популярностью пользуются биостимуляторы, которые, в отличие от химических, являются безопасными и экологичными. Особую нишу среди биостимуляторов занимают препараты на основе агрономически полезных микроорганизмов, способствующих активации азотфиксирующих процессов, повышению иммунитета и стрессоустойчивости [1-3]. Такие биопрепараты активно применяются на сельскохозяйственных культурах [4-8]. Однако относительно декоративных растений нет конкретных рекомендаций.

Работы по изучению влияния микробной инокуляции семян декоративных растений ведутся на кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской государственной сельскохозяйственной академии [9-13].

Цель работы – сравнить специфику воздействия предпосевной обработки семян декоративных растений микробными и химическими препаратами на выращивание рассады

Для исследования были выбраны химические стимуляторы Циркон и Эпин-экстра, эффективность которых была доказана нами ранее [3, 12].

В качестве микробных препаратов использовали культуры цианобактерий (ЦБ) *Fischerella muscicola*, *Nostoc paludosum*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *Microchaeta tenera* из коллекции микроорганизмов кафедры биологии растений, селекции семеноводства и микробиологии Вятской государственной сельскохозяйственной академии.

В работе использованы семена лаватеры «Рубиновый ковер», душистого горошка «Драгоценность» и настурции вьющейся «Вспышка».

Семена всех трех культур перед посевом замачивали 2 часа в опытных растворах согласно вариантам: 1. Артезианская вода; 2. Циркон; 3. Эпин-экстра; 4. Гомогенизированная суспензия клеток ЦБ *F. muscicola*, титр культуры  $6,7 \cdot 10^7$  кл./мл; 5. Гомогенизированная пятивидовая смесь ЦБ *N. paludosum*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *M. tenera*, *F. muscicola* с титром  $9,3 \cdot 10^7$  кл./мл.

После экспозиции семена помещали в пластиковые контейнеры с почвой, предварительно проверенной на фитотоксичность. Первые всходы лаватеры появились на 2-е сутки, настурции – на 3-е, душистого горошка – на 5-е (рис. 1).



Рисунок 1 – Внешний вид контейнеров с рассадой растений душистого горошка

Всхожесть семян анализировали на 7-е сутки (рис. 2).

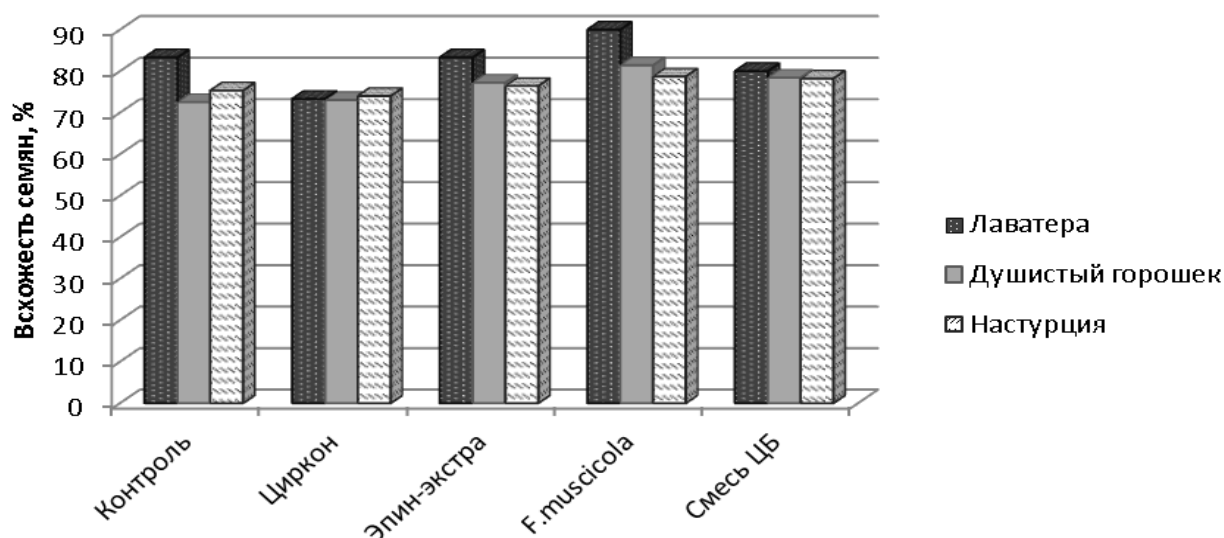


Рисунок 2 – Влияние инокуляции семян декоративных растений различными биопрепаратами и цианобактериями на их всхожесть

Полученные результаты показали, что наибольшее положительное влияние на всхожесть оказала инокуляция семян цианобактериальной суспензией *F. muscicola* и смесью ЦБ.

На 28-е сутки при высадке рассады в открытый грунт измеряли морфометрические показатели (табл. 1).

Таблица 1

Влияние инокуляции семян декоративных растений различными биопрепаратами и цианобактериями на их рост и развитие, % к контролю

Вариант	Лаватера		Душистый горошек		Настурция	
	длина корней	высота проростков	длина корней	высота проростков	длина корней	высота проростков
Контроль	100	100	100	100	100	100
Циркон	101	98	99	104	103	98
Эпин-экстра	99	96	89	88	90	100
<i>F. muscicola</i>	105	106	112	110	102	108
Смесь ЦБ	110	107	107	100	111	105

Исследования показали неоднородную отзывчивость трех растений на предпосевную обработку различными биоагентами. Существующие на рынке препараты Циркон и Эпин-экстра в первые две недели после посева оказывали стимулирующее действие на развитие проростков, затем снизив свое влияние. Тогда как инокуляция семян суспензией *F. muscicola* и смесью ЦБ оказалась более эффективна.

#### Литература

1. Домрачева Л.И., Ковина Л.А., Зыкова Ю.Н. Использование микробов-интродуцентов при выращивании декоративных культур в городских условиях // Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока. – 2012. – С.169-179
2. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Горностаева Е.А., Малыгина О.Н., Новокшенова Н.В. Влияние способов предпосевной обработки семян лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) на всхожесть и интенсивность образования клубеньков // Теоретическая и прикладная экология. – 2014. – № 3. – С. 67-71.
3. Шабалина А.В., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Эффективность использования почвенных цианобактерий при выращивании посадочного материала хвойных пород // Сохранение лесных экосистем: проблемы и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции/под ред.Н.П. Савиных, О.Н. Пересторониной, Е.А. Домниной, С.В. Шабалкиной, М.Н. Шаклеиной. – Киров: ООО «Издательство «Радуга-ПРЕСС», 2017. – С. 128-132.

4. Горностаева Е.А., Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Перспективы биотехнологического использования цианобактерий // Биотехнология – от науки к практике. Матер. Всерос. конф. с междунар. участием. – Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 98-101.
5. Зыкова Ю.Н., Леонова К.А., Трефилова Л.В. Цианобактериальная инокуляция семян томатов как индуктор их стрессоустойчивости//Аграрная наука в условиях модернизации и инновационного развития: Сборник материалов Всероссийской научно-методической конференции с международным участием, посвященная 100-летию академика Д.К. Беляева. – 2017. – С. 86-91.
6. Калинин А.А., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Эффективность инокуляции семян бобовых растений азотфиксирующими бактериями рода *Rhizobium*//Аграрная наука в условиях модернизации и инновационного развития: Сборник материалов Всероссийской научно-методической конференции с международным участием, посвященная 100-летию академика Д.К. Беляева. – 2017. – С. 95-99.
7. Калинин А.А., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Давидюк Д.С. Разработка препаратов на основе клубеньковых бактерий// Перспективы использования инновационных форм удобрений, средств защиты и регуляторов роста растений в агротехнологиях сельскохозяйственных культур: Матер. докладов участников 9-ой научно-практической конф. "Анапа-2016"/ Под редакцией В.Г. Сычева. – 2016. – С. 79-81.
8. Товстик Е.В., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Калинин А.А. Использование *Rhizobium meliolioti*, *Fischerella muscicola* и *Streptomyces wedmorensis* как биостимуляторов роста растений//В сборнике: Почвы и их эффективное использование. Материалы Международной научно-практической конференции. – Киров: Вятская ГСХА, 2018. – С. 209-217.
9. Ковина А.Л., Трефилова Л.В., Домрачева Л.И., Попов Л.Б. Использование цианобактерий при выращивании декоративных культур//Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Матер. Международ. научно-практической конф. – Киров: Вятская ГСХА, 2010. – С. 163-167.
10. Гайфутдинова А.Р., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Шестакова М.В., Домрачева Л.И. Изменение морфометрических показателей подсолнечника сорта Медвежонок под влиянием различных препаратов при искусственном инфицировании семян//Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем: Матер. XI Всерос. науч.-практ. конф.-выст. инновационных экологических проектов с междунар. участием. – Киров: Изд-во ООО «Веси», 2013. – С. 132-135.
11. Зыкова Ю.Н., Короткова А.В., Трефилова Л.В. Изучение ростстимулирующей активности цианобактерий на декоративной культуре цинния изящная (*Zinnia elegans* Jacq.)//Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Материалы II Международной конференции. – Киров: Вятская ГСХА, 2015. – С. 156-159.

12. Шабалина А.В., Ковина А.Л. Изучение ростстимулирующей активности цианобактерии *Fischerella muscicola* при выращивании декоративных растений //Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2016. – С. 395-398.

13. Козылбаева Д.В., Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Товстик Е.В. Стрептомицеты и цианобактерии как биорегуляторы при выращивании *Georgine Wild*// Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем. Материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / Ответственный редактор Т. Я. Ашихмина; Вятский государственный университет, Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. – 2017. – С. 117-122.

**УДК 504.064**

### **СПЕЦИФИКА ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ**

**Кондакова Л.В.<sup>1,2</sup> Домрачева Л.И.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ecolab2@gmail.com*

<sup>2</sup>*Вятский государственный университет, kondakova.alga@gmail.com*

<sup>3</sup>*Вятская государственная сельскохозяйственная академия, dli-alga@mail.ru*

Аннотация. В почвах фоновой территории и территорий, испытывающих антропогенную и техногенную нагрузку, отмечено 77 видов цианобактерий (ЦБ) – 84 вида и форм, в том числе 23 вида – азотфиксирующие ЦБ (30 вида и форм). В ненарушенных и слабонарушенных природных экосистемах ЦБ завершают годовой ход сезонной сукцессии, выполняя важную роль в накоплении биомассы органического вещества и участвуя в пищевых цепях и круговороте веществ. Азотфиксирующие ЦБ поддерживают экосистему снабжая её необходимым для нормального функционирования азотом. В нарушенных экосистемах ЦБ заполняют освободившиеся экологические ниши, обеспечивая функционирование экосистемы и выполняя ремедиационную роль. Стабилизирующая роль ЦБ в почвенных процессах усиливается при повышении негативного влияния на почву. При высокой толерантности к условиям среды, отдельные виды и группы видов ЦБ являются надежными индикаторами в экологической оценке среды.

Ключевые слова: цианобактерии, экосистемы, загрязнение почвы.

Цианобактерии (ЦБ) – древнейшие фототрофные организмы планеты. Являются постоянными обитателями почвы, обладают высокой устойчивостью к резким колебаниям температуры и влажности, недостатку и избытку света, высоким концентрациям солей и другим физико-химическим факторам. Функциональные особенности ЦБ проявляются в способности к различным сочетаниям типов обмена веществ как по источникам энергии, так и по

источникам углерода и азота. Многие виды ЦБ способны к миксотрофной и гетеротрофной ассимиляции углерода. Для всех видов ЦБ характерно прижизненное экстрацеллюлярное выделение органических веществ различной химической природы и биологической активности. Одни из них являются стимуляторами развития гетеротрофных бактерий, микромицетов, водорослей, другие – их ингибиторами [1]. Кроме того, ЦБ обладают огромным биоиндикационным потенциалом в оценке состояния среды [2].

В почвах Кировской области Э.А. Штиной [3] отмечено 599 видов и форм водорослей и ЦБ, в том числе 166 видов (28,6%) составляют ЦБ. Э.А. Штина показала, что в целинных дерново-подзолистых почвах из ЦБ преобладают виды родов *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix*, *Tolypothrix*, *Phormidium*, *Plectonema*, *Lyngbya*. В подзолистой почве лесов ЦБ встречаются спорадически [4]. В торфяно-болотной почве под лугом среди ЦБ главную роль играют виды пор. Oscillatoriales (*Phormidium*, *Oscillatoria*), из пор. Nostocales массовыми являются виды *N. punctiforme*, *N. linckia*, из пор. Chroococcales - *Gloeocapsa minuta*. В целинных и окультуренных серых лесных, дерново-карбонатных и пойменных почвах юга Кировской области Т.С. Носковой [5] отмечено 110 видов ЦБ. Азотфиксирующие виды представлены родами *Anabaena*, *Nostoc*, *Cylindrospermum*, *Nodularia*, *Tolypothrix*, *Calothrix*, *Microchaete*, отмечено высокое видовое разнообразие представителей родов безгетероцистных ЦБ *Phormidium* и *Oscillatoria*. Цианобактериям принадлежит ведущая роль в создании водорослевых группировок дерново-карбонатных и пойменных почв по разнообразию видового состава и численности клеток. Доминантами сообществ являются *N. commune*, *Microcoleus vaginatus*, виды *Phormidium*, *Plectonema* (дерново-карбонатная почва) и *N. sphaeroides* (пойменная почва). В пойменных почвах широко представлены ЦБ из порядка Chroococcales. На выработанных торфяниках Лугоболотной станции ВНИИ кормов им. В. Р. Вильямса (пос. Юбилейный Оричевского района) Е.А. Бусыгиной [6] отмечено 38 видов ЦБ, на торфяно-болотных почвах Каринского стационара (пос. Карино Кирово-Чепецкого района) – 62 вида. Выявлены индикаторные виды ЦБ для торфяных почв различного увлажнения: слабое (40% от полной влагоемкости) - *Nostoc calcicola*; среднее (60%) – *Ph. boryanum*, *Ph. corium*, *Ph. valderiae*; сильное (80%) - *Gloeocapsa minima*, *G. minuta*, *Trichromus variabilis*, *Cylindrospermum majus*, *Oscillatoria amoena*, *O. limosa*, *O. splendida*.

Целью исследования являлось выявление видового разнообразия и количественных характеристик цианобактериальных комплексов при различных видах загрязнения почвы.

Объектами исследований являлись почвенные ЦБ природных и антропогенных территорий Кировской области: ГПЗ «Нургуш», агрогенные и урбанизированные почвы на примере г. Кирова, почвы в районе объекта хранения и уничтожения химического оружия «Марадыковский» (ОХУХО), Кирово-Чепецкого промышленного комплекса (КЧПК), Кильмезского полигона захоронения пестицидов.

Почвенные образцы отбирались в летне-осенний период с глубины 0-5 см и 0-1 см («пленки» водорослей и ЦБ). Видовой состав микрофототрофов выявляли методом постановки чашечных культур со стёклами обрастания и микроскопированием биопленок «цветущей» почвы [7]. Количественный учет проводили методом прямого счета на мазках [8].

Согласно проведенным ранее исследованиям, в условиях Кировской области на пахотных почвах доминирующее положение в наземных сообществах микрофототрофов в поздне-летний и осенний периоды занимают ЦБ, в частности, представители рода *Cylindrospermum* (*C. licheniforme*, *C. muscicola*, *C. catenatum*) [9, 10]. Численность *Cylindrospermum* на осушенной дерново-подзолистой глееватой почве при «цветении» составляла 4,3-7,3 млн. кл./см<sup>2</sup>, на почве без осушения – 1,5-2,7 [9]. В полевом севообороте плотность клеток *C. licheniforme* может достигать 17-20 млн. кл./ см<sup>2</sup>. Отмечены уникальные морфологические особенности *C. licheniforme*: высокие темпы размножения, быстрая адаптация к меняющимся условиям среды, система сохранности вегетативных клеток внутри спор, постоянно сохраняющийся генофонд гетероцист [10].

В почвах урбанизированных территорий развитие микроорганизмов происходит в специфических условиях. Урбанизация обуславливает увеличение видового разнообразия почвенных фототрофов за счет большого числа новых экологических ниш. Структура группировок почвенных водорослей г. Кирова различается по функциональным зонам города. В промышленной и транспортной зонах доминируют ЦБ: *Microcoleus vaginatus*, *Ph. autumnale*, *Leptolyngbya foreolarum*, *N. punctiforme*, *N. linckia*. Доминирующий комплекс селитебной зоны составляют ЦБ – *Ph. autumnale*, *Ph. boryanum*, *Pseudanabaena catenata*, *Microcoleus vaginatus*, *N. punctiforme*. Менее нарушена структура группировок водорослей в рекреационной зоне города, из ЦБ отмечены: *Cylindrospermum licheniforme*, *N. paludosum*, *Leptolyngbya foreolarum*, *Ph. autumnale*. При урбанизации происходит цианофитизация фототрофных сообществ. Определение количественных параметров наземных альго-цианобактериальных разрастаний показало, что плотность клеток в плёнках «цветения» чрезвычайно велика и колеблется в разных зонах города от 18 до 47 млн./см<sup>2</sup> [11].

Таким образом, реакция ЦБ на техногенную нагрузку проявляется в изменении видового разнообразия сообществ и количественных характеристик.

В почвах ГПЗ «Нургуш» из 102 видов микрофототрофов ЦБ представлены 27 видами. В число доминирующих видов сообществ микрофототрофов входили ЦБ: *N. punctiforme*, *N. linckia*, *N. paludosum*, *Cylindrospermum licheniforme*, *C. muscicola*, *Ph. autumnale*, *Tolypothrix tenuis*. Сукцессия почвенных микрофототрофов завершается массовым развитием ЦБ, с численностью клеток до сотен тыс. /г почвы.

Флористический анализ почв района ОХУХО выявил 40 видов ЦБ, наиболее часто встречались являлись: *C. licheniforme*, *N. paludosum*, *N.*

*punctiforme*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Ph. autumnale*, *Ph. boryanum*, *Ph. formosum*. Численность клеток ЦБ составляла десятки тыс кл./г почвы.

В почвах района КЧПК, представленных пойменными луговыми фитоценозами, ЦБ представлены в основном безгетероцистными нитчатыми формами (представители родов *Phormidium*, *Leptolyngbya*). По сравнению с альгофлорой ГПЗ «Нургуш», структура группировок почвенных фототрофов района КЧХК изменяется в сторону увеличения процентного соотношения зелёных водорослей и уменьшения ЦБ (8 видов) при почти полном отсутствии азотфиксаторов. Перегрузка почв доступным азотом влечёт за собой снижение видового разнообразия ЦБ, слабое развитие или полностью отсутствие в ней азотфиксирующих ЦБ.

В почвах района Кильмезского полигона захоронения ядохимикатов видовой состав альгофлоры представлен в основном зелёными водорослями (63,6 % видового разнообразия) и низким видовым разнообразием диатомовых водорослей и ЦБ (8 видов: *C. licheniforme*, *C. catenatum*, *N. paludosum*, *Oscillatoria agardhii*, *Microcoleus vaginatus*, *Ph. autumnale*, *Ph. uncinatum*, *Ph. formosum*). В почвах данного района зональная структура альгофлоры нарушена.

Всего в почвах фоновой территории и территорий, испытывающих антропогенную и техногенную нагрузку, отмечено 77 видов ЦБ (84 видов и форм), в том числе 23 вида – азотфиксирующие ЦБ (30 видов и форм). Виды, отмеченные на фоновой, агрогенной, урбанизированной и техногенных территориях: *C. licheniforme* (Bory) Kütz., *Leptolyngbya foveolarum* Rabenh. et Gom.) Anagn. et Kom., *L. frigida* (Fritsch) Anagn. et Kom., *Microcoleus vaginatus* (Vauch.) Gom., *Nostoc linckia* (Roth) Born. et Flah., *N. muscorum* (Ag.) Elenk., *N. paludosum* Kütz., *Ph. autumnale* (Ag.) Gom., *Ph. boryanum* Kütz., *Ph. formosum* (Bory ex Gom.) Anagn. et Kom., *Ph. uncinatum* (Ag.) Gom., *Pseudanabaena catenata* Lauterb., *Tolypothrix tenuis* Kütz. Следует отметить высокую толерантность данных видов ЦБ к абиотическим факторам среды, антропогенной и техногенной нагрузке.

В условиях лабораторного эксперимента изучали воздействие пирофосфата натрия (ПФН) и метилфосфоновой кислоты (МФК) на численность и видовой состав водорослей дерново-подзолистой почвы. Наиболее устойчивыми видами к действию ПФН в дерново-подзолистой и аллювиальной дерновой почве были ЦБ *C. licheniforme* и *N. punctiforme*. Специфическая устойчивость к действию ПФН в дерново-подзолистой почве отмечена также для *Ph. boryanum*, *Ph. formosum*, *Plectonema boryanum*, *L. frigida*, а в аллювиальной дерновой почве – для *C. muscicola*, *N. linckia*, *N. paludosum*. В дерново-подзолистой и аллювиальной дерновой почвах увеличение концентрации ПФН приводит к возрастанию доли ЦБ в структуре альгоценозов (на 5,3 и 7,8%, соответственно). Под влиянием ПФН в дерново-подзолистой и аллювиальной дерновой почве в количественной структуре альгоценозов значительно увеличивается доля ЦБ. МФК стимулировала развитие ЦБ [12].



При изучении действия пестицидов нового и старого поколений (инсектицидов: ДДТ, круйзер; фунгицидов: гексахлорбензол, дивидент стар; гербицидов: симазин, пивот, гербитокс) на почвенную альгофлору было показано, что внесение большинства испытуемых препаратов приводило к подавлению развития водорослей и вспышкам размножения ЦБ, что свидетельствует о высокой токсичности большинства препаратов для эукариотных водорослей. При загрязнении почвы пестицидами происходит стабилизация альгоценозов на определенном уровне видового и количественного обилия. Плотность фототрофных популяций в исследуемых почвах достаточно велика, колеблется в широких пределах – от 500 до 2500 тыс. кл./ г, с показателями биомассы от 95 до 1500 кг/га, что сопоставимо с альгоценозами незагрязненных почв [13].

Таким образом, ЦБ выполняют стабилизирующую роль в почвенных процессах, которая усиливается при повышении негативного влияния на почву. В почве ненарушенных и слабонарушенных природных экосистем ЦБ завершают годовой ход сезонной сукцессии, выполняя важную роль в накоплении биомассы органического вещества и участвуя в пищевых цепях и круговороте веществ. Азотфиксирующие ЦБ поддерживают экосистему необходимым для нормального функционирования азотом. В нарушенных экосистемах ЦБ заполняют освободившиеся экологические ниши, обеспечивая функционирование экосистемы и выполняя ремедиационную роль. При высокой толерантности к условиям среды, отдельные виды и группы видов ЦБ являются надежными индикаторами в экологической оценке среды.

#### Литература

1. Андреюк Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В. Цианобактерии. – Киев: Наукова думка, 1990. – 200 с.
2. 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.
3. Штина Э.А. Флора водорослей бассейна реки Вятки. – Киров, 1997. – 96 С.
4. Штина Э.А. Водоросли дерново-подзолистых почв Кировской области//Тр. Ботан. ин-та АН СССР, 1959. – Сер. 2. Вып. 2. – С.36-141.
5. Носкова Т.С. Сообщества водорослей некоторых почв Кировской области: Дис. ... канд. биол. наук. – Киров, 1968. – 286 с.
6. Бусыгина Е.А. Развитие почвенных водорослей на мелиорированных выработанных торфяниках в зависимости от их водного режима: Дис. ... канд. биол. наук. – Киров, 1975. – 169 с.
7. Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. – М.: Наука, 1976. – 143 с.
8. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. – Сыктывкар, 2005. – 336 с.

9. Кондакова Л.В. Альго-цианобактериальная флора и особенности ее развития в антропогенно нарушенных почвах (на примере почв подзоны южной тайги европейской части России): Дис. ... докт. биол. наук. – Сыктывкар, 2012. – 416.
10. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы в агроэкосистемах и закономерности его развития: Автореф. дис ... докт. биол. наук. – М., 1998. – 46 с.
11. Ефремова В.А., Кондакова Л.В., Домрачева Л.И., Елькина Т.С., Вечтомов Е.М. Специфика «цветения» почвы в техногенных зонах города (на примере города Кирова)//Теоретическая и прикладная экология. – 2015. – № 4. – С. 85-89. doi: 10.25750/1995-4301-2012-2-085-089.
12. 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. doi: 10.25750/1995-4301-2014-3-062-068.
13. 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. 4-15. doi: 10.15393/j 1. art. 2016.4882.

**УДК 579.222**

## **МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ. ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

**Кувичкина Т.Н., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Решетиллов А.Н.**  
*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина  
ФИЦ Пущинского научного центра биологических исследований РАН,  
kuv@ibpm.pushchino.ru*

Аннотация. Из ила пресного озера на юге Московской области выделен новый штамм факультативно метилотрофных бактерий, для которого предложено название *Parasoccus simplex* ВКМ В-3226. Из прибрежной зоны Азовского моря выделен факультативно метилотрофный штамм актинобактерий *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782. Оба штамма обладали способностью к окислению метиламина и метанола с потреблением молекулярного кислорода, который регистрировали амперометрическим биосенсором.

Ключевые слова: метилотрофы, иммобилизация, метиламин, метанол, биосенсор

Из ила пресного озера на юге Московской области выделен новый штамм факультативно метилотрофных бактерий, использующий метиламин в качестве источника углерода, азота и энергии. На основании хемо- и генотаксономических данных штамм отнесён к группе *Alpha-Proteobacteria*, к

новому виду рода *Paracoccus*, для которого предложено название *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 [1]

Из прибрежной зоны Азовского моря выделен новый штамм, обладающий способностью к росту на метиламине и метаноле как источниках углерода и энергии, то есть является метилотрофом. На основании секвенирование гена 16S рРНК штамма изолят отнесен к виду *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 [2]. Аэробные микроорганизмы, в частности, выделенные метилотрофы, обладают ферментными системами способными окислять низкомолекулярные органические соединения (метиламин, метанол), растворимые в воде с потреблением молекулярного кислорода. Это свойство можно использовать в аналитических целях в биосенсорных системах.

Целью работы являлось изучение возможности выделенных микроорганизмов *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 и *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 быть биорецепторами амперометрического биосенсора для определения метиламина и метанола.

**Объекты исследования.** В работе использовали штамм *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 [1] и штамм актинобактерий *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 [2].

**Среда и условия культивирования.** Микроорганизмы выращивали на среде «К», которая содержала (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,125;  $\text{NaCl}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,002; вода дистиллированная 1 л, значение рН 7,2 устанавливали 3М  $\text{NaOH}$ . Для приготовления всех растворов и буферов использовали дистиллированную воду.

Культивирование проводили в колбах объемом 750 мл, содержащих 200 мл среды. После стерилизации (1 атм.; 30 мин) в среду добавляли 1 мл 30 % (об/об) метиламина и 20 мл жидкой посевной культуры. Или засеивали смывом стерильной средой с агаризованной скошенной культуры, инкубировали на качалке (140 об/мин) при температуре 29°C до начала стационарной фазы роста (2-5 суток). Биомассу (конец экспоненциальной фазы роста) отделяли центрифугированием при 5000 г в течение 30 мин, хранили в холодильнике при +4°C.

**Иммобилизация клеток.** Иммобилизованные клетки (ИМК) получали ресуспендированием в 50 мМ калий-фосфатным буфере рН 7,5. Аликвоту клеточной суспензии центрифугировали при 10 000 г в течение 3 мин при комнатной температуре. Клетки отмывали дважды тем же буфером. Иммобилизацию клеток осуществляли методом физической адсорбции. Для этого клеточную суспензию, содержащую 10 мкл 50 мМ калий-фосфатного буфера с 1 мг сырой биомассы, наносили на полоску носителя (хроматографическая стеклобумага Whatman GF/A Великобритания), формируя пятно диаметром 5 мм. Пятно подсушивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Биорецептор фиксировали на измерительной поверхности кислородного электрода типа Кларка («Кронас», Россия) с помощью нейлоновой сетки.

**Условия измерений.** Измерения проводили в открытой кювете объёмом 2 мл в буфере, насыщенном кислородом, при комнатной температуре. Для управления прибором и регистрации измерений использовался потенциостат IPC-Micro («Кронас», Россия) и персональный компьютер. Регистрируемым параметром при фиксированном потенциале (-700 мВ) являлась максимальная скорость изменения выходного сигнала  $dI/dt$  (нА/с), связанная пропорциональной зависимостью со скоростью изменения концентрации потреблённого кислорода (ответ биосенсора).

**Результаты и их обсуждение.** В условиях эксперимента были использованы не растущие микроорганизмы, для которых следует ожидать стабильные стехиометрические соотношения между количеством потреблённого кислорода и субстратом. Максимальные скорости обоих процессов были взаимно пропорциональны.

Для изучения влияния концентраций метиламина на потребление кислорода ИмК концентрации субстрата варьировали от 2,7 до 2800 мкМ. На рисунке 1 представлена градуировочная кривая зависимости ответа биосенсора от концентрации метиламина. Нижний предел определения составил 2,7 мкМ. Следует отметить, что градуировочный график включает в себя концентрацию, равную предельно допустимой концентрации (ПДК) для метиламина в воде ( $ПДК_{МА}=1$  мг/л или 33 мкМ).

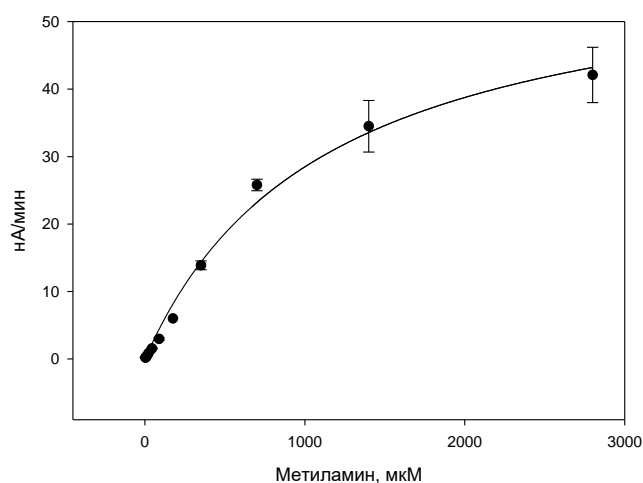


Рисунок 1 – Градуировочная кривая зависимости ответа биосенсора на основе ИмК штамма *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 от концентрации метиламина

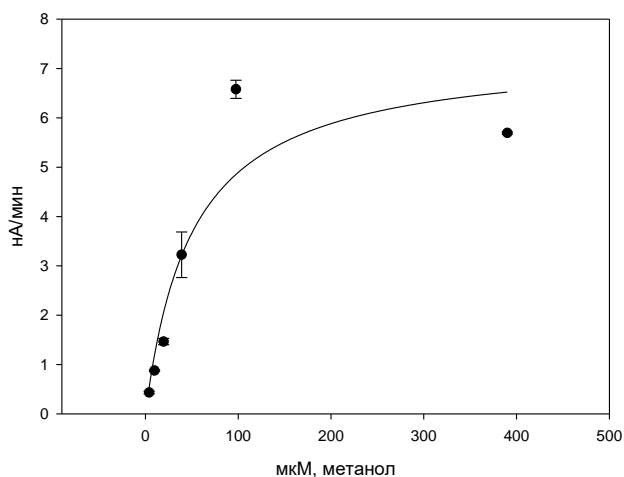


Рисунок 2 – Градуировочная зависимость ответа биосенсора на основе ИМК *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 от концентрации метанола

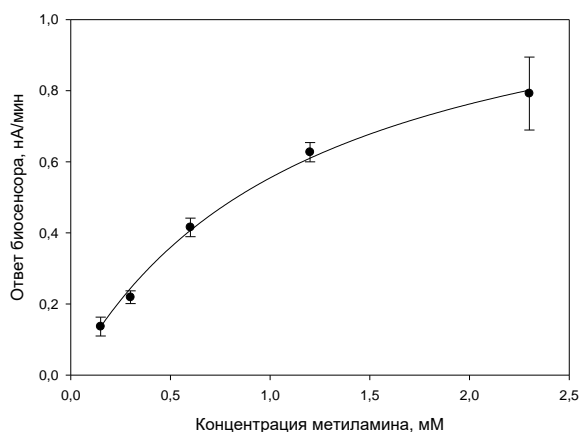


Рисунок 3 – Градуировочная зависимость ответа биосенсора на основе ИМК *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 от концентрации метиламина

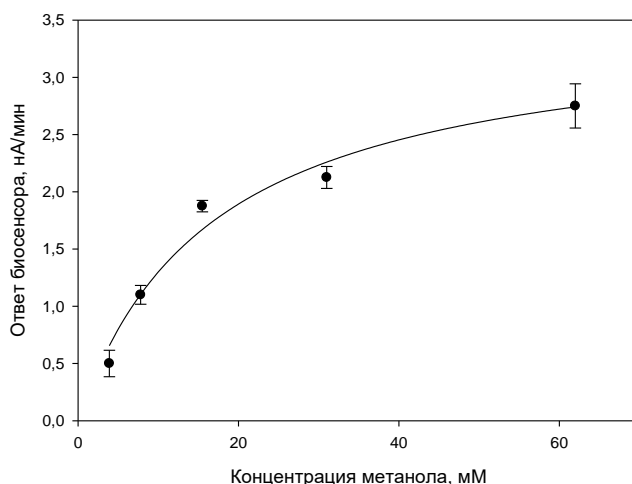


Рисунок 4 – Градуировочная зависимость ответа биосенсора на основе ИМК *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 от концентрации метанола

Для обоих штаммов скорость окисления метиламина и метанола росла по мере повышения концентрации субстрата. Время анализа для всех

биорецепторов составило не более 20 мин. Долговременная стабильность рецептора с ИмК *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 сохранялась в течение 9 суток [4].

Используя кривые субстратной зависимости (градуировочные зависимости) и компьютерную программу для нелинейной регрессии, вычислили значения кажущиеся константы сродства к субстрату ( $K_{M\text{каж}}$ ) для исследуемых субстратов по уравнению Михаэлиса – Ментен. Для метиламина у *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 и *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782 отношение ферментов к субстрату соизмеримо. Для метанола отношение ферментов к субстрату у *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226 на два порядка больше, чем у *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782.

Микроорганизмы выделены из различных природных экосистем (около пресного и солёного водоёмов), разных географических мест (Московская область и Азовское море) и принадлежали к бактериям и актинобактериям. Они обладали ферментными системами, способными окислять метиламин и метанол с потреблением молекулярного кислорода. Эти микроорганизмы могут быть биорецепторами амперометрического биосенсора для определения метиламина и метанола.

Изучение взаимодействия вещество-микроорганизм может быть полезно как для изучения свойств микроорганизма, так и для оценки содержания соединения в водной среде. Оценка содержания соединения, используя иммобилизованный микроорганизм, не является высокоспецифической, однако может быть применена для решения ряда аналитических задач.

#### Литература

1. Доронина Н.В., Капаруллина Е.Н., Чемодурова А.А., Троценко Ю.А. *Paracoccus simplex* sp. nov. – новый факультативный метилотроф, использующий метиламин//Микробиология. – 2018. – Т.87. №5. – С. 541-550.
2. Капаруллина Е.Н., Троценко Ю.А., Доронина Н.В. Характеристика и особенности  $C_1$ -метаболизма нового грамположительного факультативного *Rhodococcus wratislaviensis*//Микробиология. – 2018. – Т. 87. № 6. – С. 1-9.
3. Кувичкина Т.Н., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Решетилов А.Н. Окисление метиламина иммобилизованными клетками нового факультативного метилотрофа *Paracoccus simplex* ВКМ В-3226//Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Экология родного края: проблемы и пути их решения» 23-24 апреля 2018 г. – Кн. 2. – С. 8-12.
4. Кувичкина Т.Н., В.В. Гридина, Н.В. Доронина, Решетилов А.Н. Биосенсорный подход к исследованию нового факультативного метилотрофа *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2782//Материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем», г. Киров, 4-6 декабря 2017. – Кн. II. – С. 57-62.

5. Кувичкина Т.Н., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Троценко Ю.А., Решетиллов А.Н. Биосенсорный подход к изучению новых аэробных метилотрофов//Труды XIII Международной научной конференции «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии», ФРЭМЭ, 2018. Кн. II. – Владимир – Суздаль, 2018. – С. 321-322.

УДК 581.526.325.2

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДОМИНИРУЮЩИХ ВИДОВ ВОДОРΟΣЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ НА АКВАТОРИИ ОМУТНИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Кутявина Т. И.<sup>1</sup>, Кондакова Л.В.<sup>1,2</sup>, Ашихмина Т.Я.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Вятский государственный университет,  
kutyavinati@gmail.com

<sup>2</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
ecolab2@gmail.com

Аннотация. Представлены данные о доминирующих видах водорослей и цианобактерий Омутнинского водохранилища Кировской области и их распределении на акватории водоёма. Отмечено массовое развитие цианобактерий на участках с повышенным содержанием органических веществ и аммонийного азота в воде.

Ключевые слова: «цветение» воды, фитопланктон, водохранилище.

Омутнинское водохранилище (пруд) является вторым водоёмом в Кировской области по площади водного зеркала и объёму воды. Пруд был создан путём сооружения плотины на р. Омутной в 1773 г. В настоящее время на берегах пруда располагаются г. Омутнинск, лечебно-оздоровительные учреждения, садоводческие общества. Впервые изучение водорослей в Омутнинском пруду проведено в 1947 г. Э.А. Штиной [1]. По её данным, доминантный фитопланктон водохранилища представлен видами: *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault, *Anabaena spiroides* Klebahn, *Anabaena scheremetieviae* Elenkin, *Melosira granulata* (Ehrenberg) Ralfs, *Ceratium hirundinella* (O.F. Müller) Dujardin, *Scenedesmus* sp. Общая численность фототрофов составляла 27 млн. кл./л. В 1947 г. фитопланктон пруда был оценён как олигосапробный (чистый).

Современные мониторинговые исследования на акватории Омутнинского пруда проводятся сотрудниками лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Вятского государственного университета с 2011 г. по настоящее время.

Цель данной работы – выявить особенности распределения доминирующих видов водорослей и цианобактерий по акватории Омутнинского пруда с учётом данных гидрохимического анализа и результатов биоиндикационных исследований.

В ходе проведения исследований на 16 участках водохранилища с поверхностного горизонта были отобраны пробы воды для изучения состава водорослей и цианобактерий (ЦБ). В отобранных пробах выявлены доминирующие виды водорослей: *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault, *Anabaena crassa* (Lemmermann) Komárková-Legnová & Cronberg, *Anabaena spiroides* Klebahn, *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, *Anabaena lemmermannii* P.G.Richter, *Anabaena planctonica* Brunnthaler, *Nostoc* sp., *Stephanoidiscus* sp., *Navicula* sp., *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith, *Pinnularia* sp., *Mallomonas* sp., *Peridinium cinctum* (O.F.Müller) Ehrenberg, *Sphaerocystis planctonica* (Korshikov) Burrelly, *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] [2]. Их распределение по акватории Омутнинского пруда представлено на рисунке.

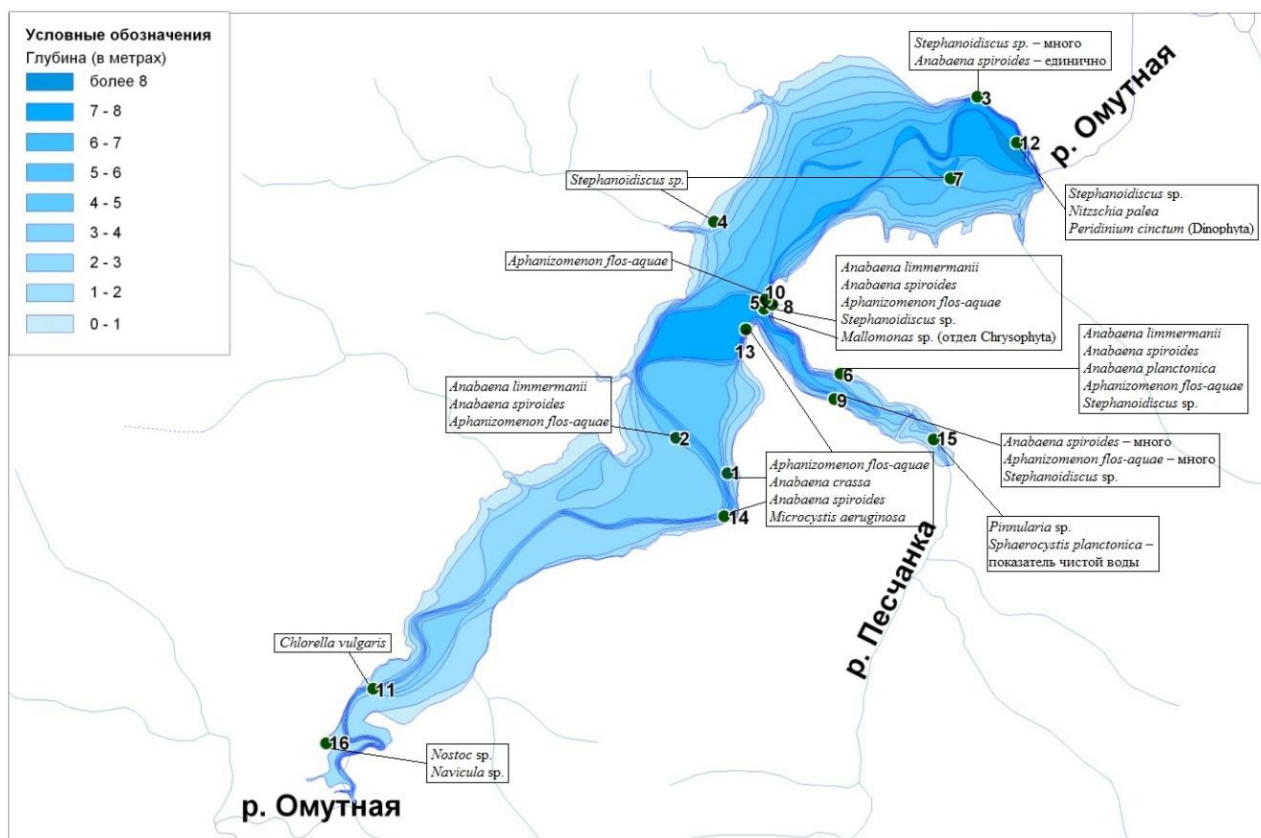


Рисунок 1 – Карта-схема участков отбора проб воды и распределения доминантных видов водорослей и цианобактерий по акватории Омутнинского пруда

В ходе проведения мониторинговых исследований было отмечено, что на различных по степени антропогенной нагрузки, глубине и гидрохимическому составу участках пруда доминируют разные виды водорослей и ЦБ. Например, массовое развитие ЦБ было зафиксировано на участках 1, 2, 5, 6, 8, 9, 13, 14. Эти участки находятся в центральной части водохранилища. Для них в течение ряда лет отмечалось повышенное, по сравнению с остальной акваторией, содержание органических веществ (по показателю ХПК) и аммонийного азота. На берегах вдоль центральной части пруда располагаются садоводческие общества. Вероятно, источником аммония и органических веществ являются



удобрения, применяемые местным населением и поступающие с ливневыми сточными водами в водоём.

На участках 4, 11, 15 и 16 было обнаружено очень мало водорослей, при этом, среди них отмечен вид, являющийся индикатором чистых вод, – *Sphaerocystis planctonica*. Перечисленные участки характеризуются небольшими глубинами (до 1 метра) и наличием зарослей высших растений, преимущественно хвоща речного (*Equisetum fluviatile* L.) (участки 15, 16) и горца земноводного (*Persicaria amphibia* (L.) S. F. Gray) (участки 4, 11). Подобная ситуация вполне закономерна, так как на акваториях, занятых зарослями высших растений, для микрофототрофов складываются неблагоприятные условия, в первую очередь, снижение интенсивности освещения. Это влечёт за собой уменьшение численности и биомассы водорослей, их функциональной активности [3].

Довольно низкое видовое разнообразие водорослей и ЦБ было отмечено на участках 3, 7 и 12, расположенных вблизи городской застройки в приплотинной части пруда. Эти участки характеризуются низким содержанием азота и фосфора, большой глубиной (6-8 м.), высокой скоростью течения (рядом с участком 12 осуществляется сброс воды через шлюзы плотины), отсутствием высших водных растений. Периодически берега в приплотинной части пруда отсыпают шлаком. Вероятно, в совокупности данные факторы оказывают неблагоприятное действие на развитие водорослей и ЦБ на приплотинном участке водохранилища.

Таким образом, отмечены особенности распределения доминантных видов водорослей и ЦБ по акватории Омутнинского пруда, связанные с химическим составом воды, наличием зарослей высших водных растений, глубиной водоёма. Полученные данные позволяют уточнить экологические особенности некоторых видов водорослей.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых учёных – кандидатов наук (МК-86.2019.5).*

#### Литература

1. Штина Э.А. Флора водорослей бассейна реки Вятки. – Киров: Киров. обл. тип, 1997. – 96 с.
2. Кутявина Т.И., Кондакова Л.В. Изучение водорослей Омутнинского водохранилища//Экология родного края: проблемы и пути решения: Материалы Всероссийской молодежной научно-практической конференции с международным участием. – Кн. 1. – Киров: ООО «Лобань», 2012. – С. 71-74.
3. Клоченко П.Д., Шевченко Т.Ф., Харченко Г.В. Структурно-функциональная организация фитопланктона в зарослях и на открытых участках озёр г. Киева//Гидробиологический журнал. – 2015. – Т. 51. № 1. – С. 49-65.

УДК 581.1

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММОВ *Coccomyxa*  
(*Trebouxiophyceae*, *Chlorophyta*), ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ  
ЖИРНЫХ КИСЛОТ**

**Мальцев Е.И., Мальцева С.Ю., Куликовский М.С.**  
*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,*  
*ye.maltsev@gmail.com*  
*svetadm32@gmail.com*  
*max-kulikovsky@yandex.ru*

Аннотация. Новый штамм *Coccomyxa elongata* MZ–Ch201 выделен из пресноводного водоема в степной зоне. Таксономическая идентификация основана на морфологическом описании и филогенетическом анализе нуклеотидных последовательностей гена 18S рДНК и участка ITS2. Эксперименты с различными концентрациями фосфатов и нитратов в питательной среде показали, что состав макроэлементов значительно влияет на профиль жирных кислот. Наибольшие изменения концентрации были обнаружены для олеиновой кислоты, от 31 до 51%.

Ключевые слова: *Coccomyxa*, жирные кислоты, биотехнология

Представители рода *Coccomyxa* Schmidle, с одной стороны, характеризуются сходной морфологией, что затрудняет их видовую идентификацию, а с другой – представляют собой богатый растительный источник омега-3 полиненасыщенных жирных кислот. Эта особенность стимулировала большой интерес к изучению потенциала использования этих микроводорослей в качестве корма для аквакультуры [1]. Сегодня известно, что омега-3 жирные кислоты в рыбий жир фактически поступают из пищевой цепи, где их основным ресурсом является зоопланктон, потребляющий омега-3-синтезирующие микроводоросли. С другой стороны, преобладание в профиле насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот влияет на ключевые свойства биодизеля, производимого из растительного сырья, а особенно на его цетановое число, температуру возгорания, вязкость, устойчивость к окислению и текучесть при низких температурах [2, 3]. Во время изучения разнообразия пресноводных водорослей степной зоны был обнаружен новый штамм рода *Coccomyxa*, который мы использовали в экспериментальных работах с целью установления оптимальных условий культивирования, анализа состав жирных кислот и его изменчивости в зависимости от условий выращивания.

Культуру пресноводного штамма MZ–Ch201 выращивали на среде ВВМ [4]. Поскольку известно, что истощение питательных веществ в среде культивирования может способствовать изменению профиля жирных кислот, нами проводились эксперименты по стрессированию. В экспериментах использовались четыре типа условий культивирования при различных концентрациях азота и фосфора: 1) среда ВВМ с утроенным содержанием азота

– 8,82 мМ NaNO<sub>3</sub>, 0,43 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 1,29 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> («3N»), 2) среда ВВМ с 0,43 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 1,29 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> и без NaNO<sub>3</sub> («-N»), 3) среда ВВМ с 2,94 мМ NaNO<sub>3</sub> и без K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> («-P») и 4) среда ВВМ без NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> («-N-P»).

Анализ морфологических особенностей нового штамма MZ-Ch201 показал его тесную связь с другими видами *Coccomyxa*. Общие черты включали морфологически сильно изменчивые вегетативные клетки, один парietальный хлоропласт без пиреноида и бесполое размножение с помощью автоспор. Различия между штаммом MZ-Ch201 и его близкородственными представителями заключались в большем размере вегетативных клеток, до 16,0 мкм, по сравнению с 10,0-13,0 мкм у *Coccomyxa elongata* Chodat et Jaag и *Coccomyxa simplex* Mainx, и в отсутствии небольших слизистых колпачков на одном из концов клетки. Филогенетический анализ методами ML и BI с использованием гена 18S рДНК и участка ITS1–5.8S рРНК–ITS2 показал, что штамм MZ-Ch201 тесно связан (с достаточной статистической поддержкой 85 бутстреп, 100 апостериорная вероятность) с другими штаммами *Coccomyxa elongata*, в том числе типовым штаммом SAG 216-9a.

В целом, состав жирных кислот в биомассе штаммов *Coccomyxa* [5-7] довольно похож при стандартных условиях культивирования. У большинства штаммов можно выделить α-линоленовую (5,2-50,0%), олеиновую (5,1-41,8%), линолевую (10,8-35,9%), пальмитиновую (8,3-29,5%) и гексадекатриеновую кислоты (2,2-13,1%) в качестве доминирующих. По сравнению с другими штаммами *Coccomyxa* (кроме *Coccomyxa melkonianii* SCCA 048), профиль жирных кислот штамма *Coccomyxa elongata* MZ-Ch201 имеет более высокое содержание пальмитиновой кислоты (21,9% в «3N» и 25,6% в условиях с недостатком азота). Содержание олеиновой кислоты в биомассе нашего штамма было 30,5-51,2%, что в 4 раза выше, чем у типового штамма *Coccomyxa elongata* SAG 216-9a (13,1%). С другой стороны, *Coccomyxa elongata* SAG 216-9a характеризуется более высокой концентрацией α-линоленовой кислоты (26,0% от общего количества жирных кислот), тогда как у нашего штамма – максимум 15.1±0.3%. Штаммы MZ-Ch201 и SAG 216-9a имеют близкий процент содержания линолевой кислоты, 11,5-14,9 и 19,7% соответственно. Доминирующей жирной кислотой при культивировании на среде 3N ВВМ, а также в условиях недостатка фосфора, была олеиновая кислота (45,0-51,2% от общего количества жирных кислот). Отсутствие азота в среде, а также одновременный недостаток азота и фосфора, сопровождалось увеличением концентрации до 23,9-25,6% пальмитиновой кислоты, до 13,5% цис-7-гексадеценовой кислоты и до 10,3-15,1% α-линоленовой кислоты по сравнению с выращиванием на среде 3N ВВМ.

Суммарное содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот в биомассе *Coccomyxa elongata* MZ-Ch201 после различных манипуляций с питательными веществами находилось в диапазоне 71,4-80,5%, что превышало долю полиненасыщенных жирных кислот (19,5-28,6%). Такое соотношение очень близко к составу жирных кислот в растительном сырье,

которое используется для производства биотоплива. Таким образом, штамм *Coccomyxa elongata* MZ-Ch201 можно рассматривать в качестве потенциального продуцента олеиновой или  $\alpha$ -линоленовой кислот для биотехнологического применения.

#### Финансирование работы

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-74-10076).

#### Литература

1. Patil V., Källqvist T., Olsen, E., Vogt G., Gislerod H.R. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed//Aquacult. Int. – 2007. –V. 15. – P. 1-9.
2. Knothe G., Van Gerpen J., Krahl J. The Biodiesel Handbook. – Champaign: AOCS Press, 2005. – 286 p.
3. Maltsev Y.I., Konovalenko T.V., Barantsova I.A., Maltseva I.A., Maltseva K.I. Prospects of using algae in biofuel production // Regul. Mech. Biosyst. – 2017. V. 8. – P. 455-460.
4. Bischoff H.W., Bold H.C. Phycological studies IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. – Austin: University of Texas Publication, 1963. – 6318 p.
5. Lang I., Hodac L., Friedl T., Feussner I. Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: a comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection//BMC Plant Biol. – 2011. – V. 11. – P. 124.
6. Wang C., Wang Z., Luo F., Li Y. The augmented lipid productivity in an emerging oleaginous model alga *Coccomyxa subellipsoidea* by nitrogen manipulation strategy//World J. Microbiol. Biotechnol. – 2017. – V. 33. – P. 160.
7. Soru S., Malavasi V., Concas A., Caboni P., Cao G. A novel investigation of the growth and lipid production of the extremophile microalga *Coccomyxa melkonianii* SCCA 048 under the effect of different cultivation conditions: experiments and modeling//Chem. Engin. J. – 2019. – V. 377. – 120589.

## ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС КАК ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ ФОТОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Огородникова С.Ю.<sup>1</sup>, Коваль Е.В.<sup>2</sup>, Пестов С.В.<sup>1,3</sup>, Зиновьев В.В.<sup>3</sup>,  
Герасимова М.Р.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
Svetao\_05@mail.ru

<sup>2</sup> Государственный аграрный университет Северного Зауралья,  
undina2-10@yandex.ru

<sup>3</sup> Вятский государственный университет,  
atylotus@mail.ru

**Аннотация:** Изучено влияние поллютантов и насекомых фитофагов на состояние пигментного комплекса фототрофных организмов (цианобактерии, травянистые и древесные растения). Показано, что неблагоприятные факторы разной природы вызывают сходные изменения в содержании зеленых и желтых пигментов в клетках. Хлорофиллы наиболее чувствительны к действию стрессоров, каротиноиды отличаются повышенной устойчивостью.

**Ключевые слова:** хлорофилл, каротиноиды, поллютанты, галловые клещи, цианобактерии, травянистые растения, древесные растения.

Биодиагностика качества окружающей среды по реакциям живых систем является актуальным направлением в мониторинговых исследованиях. Ответные биохимические реакции организмов отмечаются в первые минуты после действия стрессоров: в клетках изменяется активность ферментов, интенсивность процессов перекисного окисления липидов, накапливаются вещества, оказывающие защитное действие (антоцианы, пролин и др.).

Состояние пигментной системы фототрофных организмов является важнейшим показателем функционального статуса. Известно, что действие токсикантов различной природы (органические и неорганические загрязнители) вызывает ингибирование процессов биосинтеза пигментов, приводит к повреждению хлоропластов, инициирует процессы гидролитического распада пигментов и индуцирует окислительную деструкцию молекул пигментов [1].

Исследование влияния факторов разной природы, проведенные на некоторых объектах, позволили выявить сходные изменения в пигментном комплексе фототрофных организмов.

В модельных опытах изучена токсичность растворов метилфосфонатов (метилфосфоновая кислота (МФК) и глифосат (ГЛ)) для биопленок ЦБ с доминированием *Nostoc commune*. Через сутки после инкубации с токсикантом снижалось содержание хлорофилла *a* в клетках. В опыте с МФК ( $5 \cdot 10^{-4}$  –  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л) происходили серьезные нарушения в пигментном комплексе, концентрация хлорофилла *a* в клетках снижалась на 30–50% по сравнению с контрольным уровнем. С ростом концентрации ГЛ в среде происходило

снижение уровня хлорофилла *b* в клетках фотосинтезирующих биопленок. Минимальное содержания хлорофилла *a* отмечали в варианте с действием ГЛ самой высокой концентрации ( $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л) [2].

Выявлена тесная отрицательная корреляция между данными по интенсивности процессов перекисного окисления липидов и содержанию хлорофилла *a* в клетках фототрофов, формирующих биопленку ( $r = -0,8$ ). Снижение содержания хлорофилла *a* в присутствии МФК и ГЛ, по-видимому, является следствием окислительной деградации мембранных липидов и угнетения процессов биосинтеза хлорофилла в стрессовых условиях [2].

В опытах с высшими растениями показано влияние поллютантов разной природы на состояние фотосинтетического аппарата.

Установлено, что изменения в пигментном комплексе растений происходят в первые сутки после действия токсиканта. Так, через 12 часов после инкубации на растворах фторида натрия (0,01 моль/л) содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, каротиноидов составило соответственно 63, 70 и 53% от уровня контрольных растений [3].

Присутствие МФК в среде выращивания проростков вызывало изменения в пигментном комплексе листьев пелюшки [4]. В опытах с действием МФК ( $5 \cdot 10^{-3}$  и  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л) отмечали достоверное (в 1,3–3 раза по сравнению с контролем) снижение накопления хлорофиллов и каротиноидов в листьях.

В опытах на черенках древесных растений показано, что МФК ( $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л) вызывала изменения в пигментном комплексе листьев ольхи. Отмечено достоверное (на 40%) снижение уровня пластидных пигментов листьях опытных растений. Причем, практически одинаково снизилось содержание и как хлорофиллов, так и каротиноидов [5].

В условиях городской среды растения испытывают влияние комплекса разнообразных факторов, что сказывается на состоянии фотосинтетического аппарата. В листьях травянистых растений, произрастающих в условиях городской среды, происходят изменения в пигментной системе растений [6]. Под влиянием высокой автотранспортной нагрузки в листьях подорожника большого и одуванчика лекарственного снижается накопление хлорофиллов. Каротиноиды характеризуются большей стабильностью, и в зависимости от вида растений, их содержание или не изменяется или возрастает с увеличением интенсивности действия неблагоприятных факторов.

Влияние на фотосинтетический комплекс растений оказывают насекомые фитофаги. Установлено, что повреждение листьев древесных растений (липа, осина, рябина, вяз, черемуха) галловыми клещами приводит к изменениям в пигментном комплексе [7]. Под влиянием фитофагов в листьях уменьшается накопление хлорофиллов. При заселении клещами содержание каротиноидов снижалось только в листьях рябины и вяза, у других деревьев изменений уровня желтых пигментов не происходило. Известно, что каротиноиды выполняют протекторную функцию в клетках, являются низкомолекулярными антиоксидантами. Изменение накопления каротиноидов может быть связано с

протеканием адаптационных процессов в тканях, пораженных галловыми клещами.

Степень изменений в пигментном комплексе растений зависит от вида растений и вида галловых клещей. Среди изученных растений более чувствительными к поражению галлами были липа и черемуха, в меньшей степени происходили изменения в пигментном фонде при поражении клещами листьев вяза, рябины и осины. Значительные изменения в пигментном фонде листьев липы и черемухи, по сравнению с другими видами растений, могут быть обусловлены высокой долей поврежденных листьев, а также типом повреждений, которые вызывают галловые клещи. Так, поражение клещом *Eriophyes tiliae* листьев липы и *Eriophyes padi* листьев черемухи приводит к образованию рожковидных галлов на верхней стороне листа. В листьях вяза, рябины и осины, пораженных клещами, которые вызывают образование войлочек на нижней стороне листа, изменения в пигментном комплексе были незначительны.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что состояние пигментного комплекса фототрофных организмов является чувствительным и информативным индикатором функционального статуса. Неблагоприятные факторы разной природы вызывают сходные изменения содержания зеленых и желтых пигментов в клетках. Хлорофиллы отличаются повышенной чувствительностью, уровень зеленых пигментов в клетках фототрофов снижается под действием стрессоров. Каротиноиды в растительной клетке выполняют ряд функций, в том числе и протекторную. Поэтому, в неблагоприятных условиях может происходить накопление желтых пигментов.

#### Литература

1. Гетко Н.В. Растения в техногенной среде. – Минск, 1989. – 208 с.
2. Коваль Е. В. Влияние цианобактерий на жизнедеятельность ячменя в условиях загрязнения метилфосфоновой кислотой: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. – Тюмень, 2019. – 18 с.
3. Свинолупова Л.С., Огородникова С.Ю. Действие фторида натрия на биохимические показатели ячменя сорта «Новичок»//Экология родного края: проблемы и пути решения: Матер. всерос. молод. науч.-практ. конф. – Киров, 2011. – С. 189-191.
4. Огородникова С.Ю., Головки Т.К. Влияние метилфосфоновой кислоты на растения пелюшки//Агрохимия. – 2005. – №4. – С. 37-41.
5. Огородникова С.Ю. Использование черенков древесных растений в экотоксикологических исследованиях//Биологический мониторинг природно-техногенных систем / Под общ. ред. Т.Я Ашихминой, Н.М. Алалыкиной. – Сыктывкар, 2011. – С. 147-152.
6. Житлухина И.С., Коваль Е.В., Огородникова С.Ю. Изучение пигментного комплекса и содержания аскорбиновой кислоты в листьях растений, произрастающих в условиях городской среды//Экология родного края:

проблемы и пути решения: Матер. всерос. молод. науч.-практ. конф. – Киров, 2011. – С. 147-149.

7. Пестов С. В., Огородникова С. Ю. Состояние фотосинтетического аппарата древесных растений при повреждении галловыми клещами//Поволжский экологический журнал. – 2019. – № 3. – С. 348– 359.

**УДК 57.044**

## **БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦОВ: ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА И ПРОБЛЕМЫ**

**Олькова А.С.**

*Вятский государственный университет,  
morgan-abend@mail.ru*

Аннотация. В материалах проанализированы основные особенности и правила биотестирования почвенных образцов. Описаны особенности пробоотбора и пробоподготовки, использования культивационной воды, анализа получаемых результатов. Обозначены основные проблемы, сопровождающие биотесты почвенных проб, выполненные с помощью элюатного подхода.

Ключевые слова: биотестирование, почвы, водные вытяжки из почв, загрязнение почв

Биотестирование почвенных образцов представляет собой важное экспериментальное биодиагностическое направление исследования экологического состояния почвенного покрова [1-5]. С методической точки зрения биотестирование почвенных образцов подразделяется на элюатное и контактное. При элюатном биотестировании готовится водная вытяжка из почвенных образцов (проб) при различном соотношении фракций «вода» и «твердая фаза», затем тест-организмы помещаются в полученный фильтрат. Контактное биотестирование почв представляет собой непосредственную аппликацию тест-организмов на почву или внутрь пробы. Чаще всего встречается элюатное биотестирование, поскольку в качестве тест-организмов наиболее распространены гидробионты. Исходя из данной ситуации, можно сформулировать правила биотестирования почвенных образцов, а также выделить некоторые проблемы, свойственные группе методов.

Правила элюатного биотестирования почв:

- желательно использовать смешанную пробу почвы с изучаемой территории (опытной площади), так как точечные пробы, отобранные даже с близко расположенных территорий, могут значительно различаться по токсичности в силу гетерогенности почвенной среды;

- на этапе подготовки пробы необходимо тщательно убирать из образца растительные включения. Например, на результат анализа может повлиять присутствие в пробе таких растений, как вех ядовитый, валериана



лекарственная и других видов, накапливающих биологически активные вещества;

- в качестве экстрагирующей жидкости используют чистую природную воду; чаще всего это та же вода, которая используется для культивирования тест-организмов (*Daphnia magna*; *Ceriodaphnia affinis*);

- для биотестирования почвенных образцов экстрагирование дистиллированной водой также распространено, так как экстракт насыщается необходимыми макро- и микроэлементами достаточно, чтобы не вызывать осмотического шока у организмов, как это происходит в дистиллированной воде. Дистиллированная вода рекомендуется, например, для *Escherichia coli*, *Paramecium caudatum*, *Chlorella vulgaris*;

- для выявления присутствия токсикантов эффективно сравнение степени токсичности водных вытяжек из почв, приготовленных с использованием природной и дистиллированной воды, поскольку степень экстракции токсикантов дистиллированной водой может быть выше;

- фильтровать полученный экстракт принято с использованием крупноячеистых фильтров «белая лента»;

- тест-организмы помещаются в тестируемую среду сразу после приготовления экстракта, однако, если водная вытяжка из почвы содержит множество взвешенных частиц, которые могут повлиять на результат биотестирования, то допускается отстаивание пробы в холодильнике до 7 суток;

- в процессе экспонирования тест-организмов может выпадать осадок из жидкой пробы, перемешивать его с надосадочной жидкостью не стоит, так как это естественный процесс;

- водные вытяжки из некоторых типов почв значительно изменяют уровень рН, поэтому для выяснения причин гибели тест-организмов или проявления других эффектов желательно сравнивать токсичность экстрактов, у которых уровень рН был доведен до оптимального уровня, с экстрактами без изменения естественного рН.

К научно-методическим проблемам биотестирования почвенных образцов можно отнести следующее:

- не унифицировано соотношение фракций «вода» и «твердая фаза», поэтому в соответствии с различными методиками испытаний будут получены качественно разные тестируемые среды;

- дополнительные манипуляции с водными вытяжками из почв, такие как доведение рН до оптимального уровня, фильтрование, отстаивание, насыщение кислородом воздуха, значительно изменяют изначально приготовленную пробу, что нужно учитывать при интерпретации полученных результатов;

- водные экстракты из почв очень часто вызывают стимуляцию оцениваемых жизненных функций у тест-организмов, поскольку они богаты биогенными элементами, необходимыми для развития организмов и их модельных популяций. Однако, эти эффекты «маскируют» действие потенциально опасных веществ;

- огромное разнообразие веществ, составляющих почву, и взаимодействия между соединениями, происходящие в данном компоненте среды, приводят к снижению биодоступности загрязняющих веществ, что приводит к занижению токсикологических показателей. Например, при высоком валовом содержании тяжелых металлов в почве, концентрация подвижных форм в почвенном растворе и далее в водной вытяжке из почв может быть относительно низкой, что закономерно приводит к невысокой токсичности;

- при экстрагировании соединений из почвы для различных химических анализов и для биотестирования, используются разные по свойствам экстрагенты, поэтому сравнивать результаты этих групп методов приходится с рядом допущений.

#### Литература

1. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю., Трефилова Л.В., Вахмянина С.А., Трушников П.А. Оценка влияния почвенной цианобактерии *Nostoc paludosum* на растения ячменя//Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров: ВятГУ, 2019. – С. 227-231.
2. Домрачева Л.И., Трифонов Р.Н., Изотова В.А., Вахрушева Н.Э., Трефилова Л.В. Использование методов химического и микробиологического анализа для диагностики состояния почв г. Кирова//Мелиорация почв для устойчивого развития сельского хозяйства. В 2 ч.: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ч. 1. – Киров: Вятская ГСХА, 2019. – С. 76-81.
3. Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Особенности альго-цианобактериальных комплексов различных экотопов//Мелиорация почв для устойчивого развития сельского хозяйства. В 2 ч.: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ч. 1. – Киров: Вятская ГСХА, 2019. – С. 156-164.
4. Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Биологические методы анализа урбаноземов//Современному АПК – эффективные технологии: материалы Международной научно-практической конференции. В 5 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2019 – Т.1. Агрономия. – С. 180-184.
5. Фокина А.И., Лялина Е.И., Трефилова Л.В., Ашихмина Т.Я. Отклик почвенной цианобактерии на действие сульфата меди (II) в присутствии глутатиона восстановленного//Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – №3. – С. 101-108. DOI: 10.25750/1995-4301-2019-3-101-108.

УДК 631.466.3:631.445.11

## ЦИАНОБАКТЕРИИ И ЭУКАРИОТНЫЕ ВОДОРОСЛИ В НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ПОЛЯРНОГО, ПРИПОЛЯРНОГО И СЕВЕРНОГО УРАЛА

Патова Е.Н., Новаковская И.В.

*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
patova@ib.komisc.ru; novakovskaya@ib.komisc.ru*

Аннотация. Обобщены литературные и оригинальные данные по видовому разнообразию почвенных водорослей Полярного, Приполярного и Северного Урала. Всего в почвах исследованного района выявлено 308 таксонов водорослей из шести отделов. В альгологическом отношении наиболее изучена территория Приполярного Урала – 222 вида и Северного Урала – 137. Почвенная альгофлора Полярного Урала наименее исследована – 103 таксона. В ходе работы проведен таксономический и эколого-географический анализ флоры почвенных водорослей и цианобактерий района исследований.

Ключевые слова: почвенные водоросли, разнообразие, Полярный, Приполярный и Северный Урал.

Уральские горы – одни из самых древних гор на нашей планете. Они подразделяются на пять географических зон: Полярный, Приполярный, Северный, Средний и Южный Урал. Каждая из этих зон сильно различается по климатическим условиям и произрастающей растительности. Большую роль в горных сообществах северных районов Уральских гор играют цианобактерии и эукариотные водоросли. Они, вместе с другими споровыми растениями и лишайниками, одни из первых поселяются на поверхности голых субстратов и участвуют в создании органического вещества почвы. Несмотря на это, изучение почвенных водорослей Полярного, Приполярного и Северного Урала начато относительно недавно. Первый список неподвижных зеленых микроводорослей пятнистых каменистых грунтов Полярного Урала был опубликован В.М. Андреевой в 2004 году (по сборам Е.Н. Патовой) [1]. Список включал 25 видов. С 2010 года сотрудниками Института биологии проводится целенаправленное изучение водорослей Полярного, Приполярного и Северного Урала. За 10 лет исследований выявлен видовой состав водорослей этого района, изучена структура сообществ, азотфиксирующая способность биологических почвенных корочек, найдены новые виды как для региона, так и для науки в целом [2-6]. Но, к сожалению, общий список по почвенным водорослям для северных регионов Урала отсутствует.

Цель настоящей работы заключалась в обобщении литературных и оригинальных данных по видовому разнообразию почвенных водорослей и цианобактерий Полярного, Приполярного и Северного Урала.

В ходе инвентаризации почвенной альгофлоры района исследований были изучены все имеющиеся литературные данные, а также проанализированы опубликованные и неопубликованные сведения авторов. При составлении флористического списка использована современная номенклатура водорослей, приведенная в соответствии с международной базой данных «AlgaeBase» [7].

В настоящее время на территории Полярного, Приполярного и Северного Урала выявлено 308 таксонов почвенных водорослей и цианобактерий из 82 семейств, 34 порядков, 11 классов и шести отделов (Cyanobacteria – 100, Euglenophyta – 1, Ochrophyta – 10, Bacillariophyta – 50, Chlorophyta – 134 и Charophyta – 13). Это составляет 45 % от общего видового разнообразия почвенной альгофлоры северо-востока европейской части России. К ведущим родам относятся: *Chlamydomonas*, *Tetracystis*, *Eunotia*, *Pinnularia*, *Phormidium*, *Chroococcus*, *Leptolyngbya*, *Stigonema*, *Nostoc*, *Bracteacoccus*. С высокой частотой в почвах исследуемого региона встречаются: *Chlamydocapsa lobata* Broady, *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Coelastrella terrestris* (Reisigl) E. Hegewald & Hanagata, *Desmonostoc muscorum* (C. Agardh ex Bornet & Flahault) Hrouzek & Ventura, *Elliptochloris bilobata* Tschermak-Woess, *E.subsphaerica* (Reisigl) H. Ettl & G. Gärtner, *Gloeocapsopsis magma* (Brébisson) Komárek & Anagnostidis ex Komárek, *Hantzschia amphioxys* (Ehrenberg) Grunow, *Interfilum terricola* (J. B. Petersen) Mikhailiuk, Sluiman, Massalski, Mudimu, Demchenko, Friedl & Kondratyuk, *Klebsormidium flaccidum* (Kützing) P.C. Silva, Mattox & W.H. Blackwel, *Leptolyngbya foveolarum* (Gomont) Anagnostidis & Komárek, *Lobochlamys culleus* (H. Ettl) Pröschold, B. Marin, U. Schlösser & Melkonian, *Mesotaenium macrococcum* (Kützing ex Kützing) J. Roy & Bisset, *Microcoleus autumnalis* (Gomont) Strunecky, Komárek & J.R. Johansen, *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina & Puncová, *Myrmecia bisecta* Reisigl, *Nostoc commune* f. *ulvaceum* Elenkin, *N. punctiforme* Hariot, *Potamolinea aerugineocaerulea* (Gomont) M.D. Martins & Branco, *Phormidium corium* Gomont ex Gomont, *Pseudococcomyxa simplex* (Mainx) Fott, *Scytonema hofmanii* C. Agardh ex Bornet & Flahault, *Stenomitos frigidus* (F.E. Fritsch) Miscoe & J.R. Johansen, *Stigonema minutum* Hassall ex Bornet & Flahault, *S. ocellatum* Thuret ex Bornet & Flahault, *Tolypothrix tenuis* Kützing ex Bornet & Flahault, *Vischeria magna* (Petersen) Kryvenda, Rybalka, Wolf & Friedl.

В исследованных сообществах присутствуют одноклеточные (129 таксонов), многоклеточные (99) и колониальные организмы (78). По морфологической структуре таллома преобладают виды с коккоидной структурой (181), а также присутствуют с нитчатой (85), монадной (20), сарциноидной (17) и разнонитчатой (3).

Большинство выявленных видов являются космополитами, что характерно для северных альгофлор. Их доля составляет около 90% от числа видов, для которых сведения найдены. В исследованных сообществах отмечено преобладание типично почвенных или эдафотрофных видов (85 %),

гидрофильные и амфибиальные виды составляют незначительную часть (7 и 8 %, соответственно).

В настоящее время достаточно хорошо изучена альгофлора Приполярного Урала, где всего выявлено 222 таксона из пяти отделов: Cyanobacteria – 81, Ochrophyta – 8, Bacillariophyta – 49, Chlorophyta – 75 и Charophyta – 9. На Северном Урале обнаружено 137 видов из шести отделов: Cyanobacteria – 49, Euglenophyta – 1, Ochrophyta – 4, Bacillariophyta – 2, Chlorophyta – 72 и Charophyta – 9. Наименее изучена территория Полярного Урала, где найдено всего 103 таксона из пяти отделов: Cyanobacteria – 23, Ochrophyta – 3, Bacillariophyta – 5, Chlorophyta – 64 и Charophyta – 8 (рис. 1).

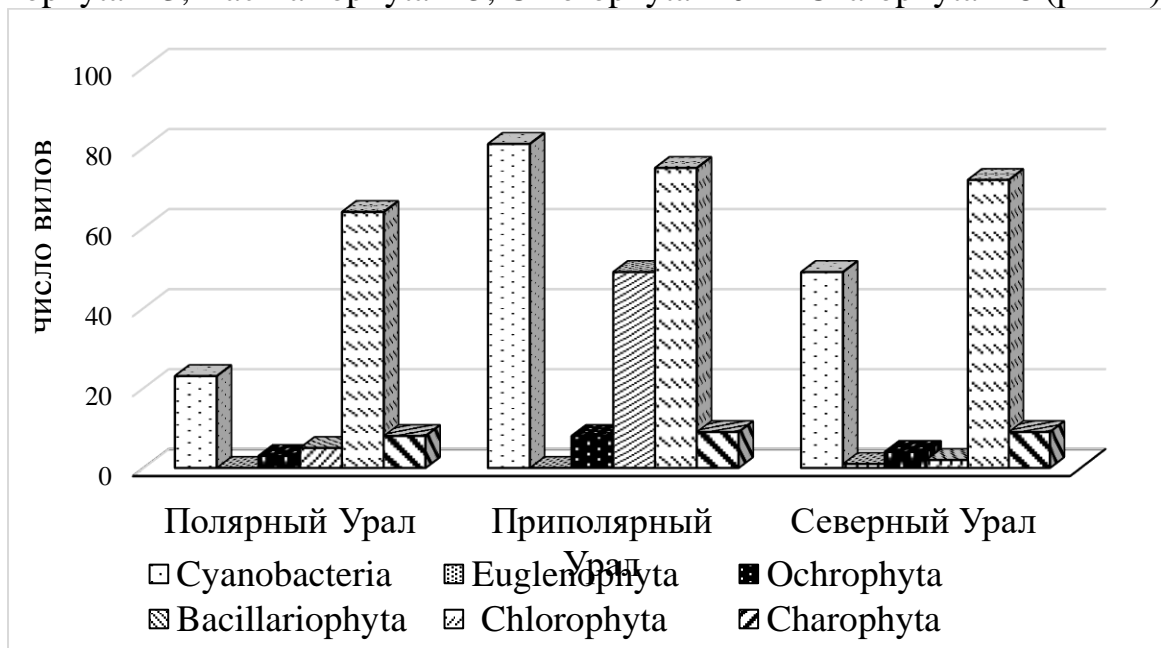


Рисунок 1 – Соотношение видового разнообразия почвенных водорослей из горных сообществ Полярного, Приполярного и Северного Урала по отделам

В ходе исследования отмечено высокое сходство альгогруппировок Полярного, Приполярного и Северного Урала. Тем не менее в их таксономической структуре выявлен ряд специфических отличий. Так, только в почвах Полярного Урала выявлены виды: *Botryokoryne simplex* Reisinger, *Cecidochloris adnata* (Korshikov) H. Ettl, *Characium perforatum* K. W. Lee et H. C. Bold, *Oedogonium* sp., Приполярного Урала: *Gloeocapsa alpina* Nägeli, *Jaaginema pseudogeminatum* (G. Schmid) Anagnostidis & Komárek, *Pleurochloris pyrenoidosa* Pascher, Северного Урала: *Ammatoidea normanii* West & G.S. West, *Astasia dangeardii* Lemmermann, *Closterium pusillum* Hantzsch, *Deasonia multinucleata* (Deason et H.C. Bold) H. Ettl et Komárek, *Microthamnion kuetzingianum* Nägeli ex Kützing, *Pleurocapsa aurantiaca* Geitler.

Большинство обнаруженных видов в почвах исследованного района выделены в чистые культуры и поддерживаются в коллекции живых штаммов микроводорослей Института биологии Коми НЦ УрО РАН (SYKOA). Для ряда из них проведено изучение морфологических, молекулярно-генетических и экологических особенностей, а также функциональных показателей [3, 5-6].

Дальнейшее развитие альгофлористических и физиологических исследований позволит выявить новые для науки и региона таксоны, а также виды перспективные для использования в биотехнологии.

*Исследования выполнены в рамках бюджетной темы № АААА-А19-119011790022-1 и грантов РФФИ № 18-04-00643 и 18-04-00171.*

#### Литература

1. Андреева В.М. Почвенные неподвижные зеленые водоросли (Chlorophyta) Воркутинской тундры (Республика Коми)//Новости систематики низших растений. – 2004. – № 37. – 3-8.
2. Новаковская И.В., Патова Е.Н., Кулюгина Е.Е. Изменение разнообразия цианопрокариот и водорослей при зарастании пятен-медальонов горно-тундровых сообществ Северного Урала//Ботанический журнал. – 2019. – Т. 104. № 4. – С. 69-86.
3. Патова Е.Н., Новаковская И.В. Почвенные водоросли северо-востока европейской части России//Новости систематики низших растений. – 2018. – Т. 52. – С. 311-353.
4. Novakovskaya I.V., Dubrovskiy Y.A., Patova E.N., Novakovskiy A.B., Sterlyagova I.N. Influence of ecological factors on soil algae in different types of mountain tundra and sparse forests in the Northern Urals//Phycologia. – 2020. – V. 59. № 4. – P. 320-329.
5. Patova E., Sivkov M., Patova A. Nitrogen fixation activity in biological soil crusts dominated by cyanobacteria in the Subpolar Urals (European North–East Russia)//FEMS Microbiology Ecology. – 2016. – № 9. – P. 1-9.
6. Novakovskaya I.V., Patova E.N., Boldina O.N., Patova A.D., Shadrin D.M. Molecular phylogenetic analyses, ecology and morphological characteristics of *Chloromonas reticulata* (Goroschankin) Gobi which causes red blooming of snow in the Subpolar Urals//Cryptogamie, Algologie. – 2018. – № 39. – P. 199-213.
7. Guiry M. D., Guiry G. M. 2018. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org> (дата обращения: 15 сентября 2020).

**УДК 606:57.036**

### **ПРОИЗВОДСТВО ПРИРОДНОГО АСТАКСАНТИНА**

**Петрухина Д. И.**

*Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии,  
daria.petrukhina@outlook.com*

Аннотация. Актуальность настоящего исследования обусловлена дальнейшей необходимостью разработки методов получения астаксантина из природных источников. Результаты проведенной работы могут быть положены в основу создания эффективного биотехнологического способа производства

астаксантина путем культивирования таких микроорганизмов как *Chlorella zofingiensis*, *Haematococcus pluvialis* и *Phaffia rhodozyma* в двух и трех стадийных культурах: гетеротрофно/фототрофно, гетеротрофно, гетеро-трофно/фотоавтотрофно, гетеротрофно/фотомиксотрофно, гетеротрофно.

Ключевые слова: астаксантин, продуктивность, культивирование.

Астаксантин является природным антиоксидантом из класса каротиноидов. В приведенной ниже таблице перечислены стратегии культивирования и параметры, достигнутые для различных организмов при производстве астаксантина.

Исходную информацию, которая позволила рассчитать окончательный процесс (таблица 1) получали из литературных источников для трех микроорганизмов:

- *Chlorella zofingiensis* (Ip, Chen 2005; Chen,2006; Sun et al. 2008; Han et al. 2013);
- *Haematococcus pluvialis* (Kobayashi et al. 1992; Hata et al. 2001; Wang et al. 2004; Kang et al. 2005; Aflalo et al. 2007; Del Río et al. 2008; Li et al. 2011; Han et al. 2013)
- *Phaffia rhodozyma* (дрожжи) (Yamane et al. 1997).

В данной работе нами были получены (из опубликованных работ) либо рассчитаны по формулам 1-4 следующие параметры:

$\mu$  [сут<sup>-1</sup>): удельная скорость роста;

$X_0$  [г/л]: начальная плотность клеток;

$X_{max}$  [г/л]: максимально достижимая концентрация клеток;

$t_1$ [сут]: время гетеротрофного культивирования;

$X(t)$  [г/л]: концентрация клеток в момент времени  $t$ ;

$V_R$ [л]: рабочий объем реактора;

$m_x$ [г]: сухая биомасса в объеме  $V_R$ ;

$w_{AX}$  [мг/г]: доля астаксантина в биомассе;

$t_{tot}$ [t]: продолжительность процесса;

$P_{AX}$  [мг/л/сут]: производительность астаксантина.

Формулы для расчета:

$$X(t)[г л^{-1}] = X_0 e^{\mu \cdot t_1} \quad (1)$$

$$m_{AX} = m_{x90\%} \cdot w_{AX} \quad (2)$$

$$t_{tot} = t_1 + t_{фототрофно} \quad (3)$$

$$P_{AX}[мг л^{-1}сут^{-1}] = \frac{m_{AX}}{V_R \cdot t_{tot}} \quad (4)$$

Таблица 1

Расчет продуктивности природного астаксантина

Микроорган изм	Продуктивность астаксантина в культурах (двух и трех стадийных)				
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Гетеро- трофно/	Гетеро- трофно	Гетеро- трофно/	Гетеро-трофно/ фотомиксо-	Гетеро- трофно

	фото- трофно		фотоавто- трофно	трофно	
	t <sub>tot</sub> [сут]	t <sub>tot</sub> [сут]	P <sub>AX1</sub> [mg/L/d]	P <sub>AX2</sub> [mg/L/d]	P <sub>AX3</sub> [mg/L/d]
	11	3	6,49	1,85	0,36
	13	5	8,87	2,53	0,35
	18	10	21,27	6,06	0,58
<i>Chlorella zofingiensis</i>	11	3	нет данных	0,36	0,23
	13	5	нет данных	1,29	0,59
	15	7	нет данных	4,73	1,79
<i>Phaffia rhodozyma</i>	нет данных	2	нет данных	нет данных	0,05
	нет данных	3	нет данных	нет данных	0,25
	нет данных	4	нет данных	нет данных	1,43

Рассчитанные значения следует рассматривать как литературные. Однако они могут быть полезны для выбора оптимальной стратегии выращивания микроорганизмов с высокой продуктивностью астаксантина. Проведенная работа нацелена на будущий исследовательский проект с использованием отходов для производства астаксантина с целью его использование в качестве кормовой добавки в аквакультуре.

#### Литература

1. Aflalo C., Meshulam Y., Zarka A., Boussiba S. On the relative efficiency of two- vs. one-stage production of astaxanthin by the green alga *Haematococcus pluvialis*//Biotechnol Bioeng. – 2007. – № 98. – P. 300-305.
2. Chen, F. Methods for production of astaxanthin from the green microalgae *Chlorella* in dark-heterotrophic cultures//U.S. Patent No. 7,063,957. 20 Jun. 2006.
3. Han D., Li Y., Hu Q. Astaxanthin in microalgae: pathways, functions and biotechnological implications//ALGAE. – 2013. – № 28. – P. 131-147.
4. Hata N., Ogbonna J.C., Hasegawa Y., Taroda H., Tanaka H. Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic-photoautotrophic culture//J. Appl. Phycol. – 2001. – № 13. – P. 395-402.
5. Ip P.F., Chen F. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in the dark//Process Biochem. – 2005. – № 40. – P. 733-738.
6. Kang C.D., Lee J.S., Park T.H., Sim S.J. Comparison of heterotrophic and photoautotrophic induction on astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis*//Appl Microbiol Biotechnol. – 2005. – № 68. – P. 237-241.
7. Kobayashi M., Kakizono T., Yamaguchi K., Nishio N., Nagai S. Growth and astaxanthin formation of *Haematococcus pluvialis* in heterotrophic and mixotrophic conditions//J. Ferment Bioeng. – 1992. № 74. – P. 17-20.
8. Li J., Zhu D., Niu J., Shen S., Wang G. An economic assessment of astaxanthin



production by large scale cultivation of *Haematococcus pluvialis*//Biotechnol Adv. – 2011. – № 29. – P. 568-574.

9. Sun N., Wang Y., Li Y.T., Huang J.C., Chen F. Sugar-based growth, astaxanthin accumulation and carotenogenic transcription of heterotrophic *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta)//Process Biochem. – 2008. № 43. – P. 1288-1292.

10. Wang S.B., Chen F., Sommerfeld M., Hu Q. Proteomic analysis of molecular response to oxidative stress by the green alga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae)//Planta. – 2004. – № 220. – P. 17-29.

11. Yamane Y., Higashida K., Nakashimada Y., Kakizono T., Nishio N. Influence of Oxygen and Glucose on Primary Metabolism and Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma* in Batch and Fed-Batch Cultures: Kinetic and Stoichiometric Analysis//Appl Environ Microbiol. – 1997. – № 63. – P. 4471-4478.

**УДК 579.64**

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ЛЕСОВОЗОБНОВЛЕНИИ**

**Рачеева Н.Э., Трефилова Л.В.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
nm-flora@rambler.ru*

Аннотация. Изучено влияние цианобактерий на всхожесть и развитие семян пихты корейской. Показано, что цианобактериальная инокуляция семян увеличивает всхожесть, оказывает ростстимулирующее действие на сеянцы пихты и их адаптационные способности при пересадке.

Ключевые слова: пихта, цианобактерии, ростстимуляция, древесные растения.

Хвойная растительность является источником биологически активных экстрактивных веществ. Это возобновляемое растительное сырьё содержит соединения, обладающие ростстимулирующей, фунгицидной, бактерицидной активностью, на основе которых разработаны регуляторы роста растений. Преимуществами природных регуляторов (стимуляторов) роста являются их экологическая безопасность, многофункциональность действия, низкие нормы расхода [1]. Значительный урон дикой природе наносит систематическое уничтожение лесов, что дестабилизирует экосистему. Для сохранения лесных экосистем приоритетное значение имеют особо охраняемые природные территории. Поддерживают лесной фонд лесопитомники и лесовосстановительные работы, которые проводят мероприятия по восстановлению лесов на вырубленных площадях.

Более того, многие города нуждаются в масштабной реконструкции озеленительного комплекса, замены возрастных деревьев и посадки новых в старых микрорайонах и создании зелёных уголков в строящихся микрорайонах, а содержать лесопитомники иногда не находится средств в местных бюджетах.

Поэтому для реконструкции озеленительного комплекса городов требуется много недорогого, но качественного посадочного материала.

Применение технологических схем выращивания посадочного материала, основанных на применении экологически безопасных природных и синтетических регуляторов (стимуляторов) роста в сочетании с агрохимикатами, является одним из перспективных направлений производства саженцев. Это позволяет получить качественный посадочный материал для лесовосстановления с минимальными затратами труда и средств [2].

В нашем регионе особое внимание уделяют восстановлению хвойных лесов, поэтому выращивание качественного посадочного материала, который необходимо получать при минимальных денежных затратах и в короткие сроки, остается актуальной задачей [3].

При выращивании хвойных растений актуально применение БП, способствующих повышению качества семян и посадочного материала, обеспечивающих устойчивость растений к неблагоприятным условиям внешней среды и заболеваниям, стимулирующих образование корней, рост побегов, репродуктивных органов и фитомассы [4-7].

Для повышения стрессоустойчивости и адаптации хвойных растений при пересадке используют циркон, силиплант, Вэрва-ель, люрастим, экстрасол, «Биоплант флора», «Экстрасол». Наряду с биопрепаратами используют и ЦБ, которые оказывают стимулирующее действие на развитие корневой системы и надземной части тем самым увеличивают адаптационные свойства растений [8, 9].

Цель работы – оценка использования цианобактерий в качестве стимуляторов роста сеянцев пихты корейской.

**Объекты и методы.** Доказательства эффективности ростстимулирующего действия были получены при использовании цианобактерий (ЦБ) в качестве предпосевной бактеризации семян сосны сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour), сосны корейской (*Pinus koraiensis* Siebold & Zucc.), лиственницы европейской (*Larix decidua* Mill.) и туи западной (*Thuja occidentalis* L.) [8-10].

В следующей серии опытов продолжили поиск альтернативных объектов агробιοтехнологии и в качестве тест-культуры использовали семена пихты корейской (*Abies koreana* Wils., семейство Сосновые (Pinaceae)).

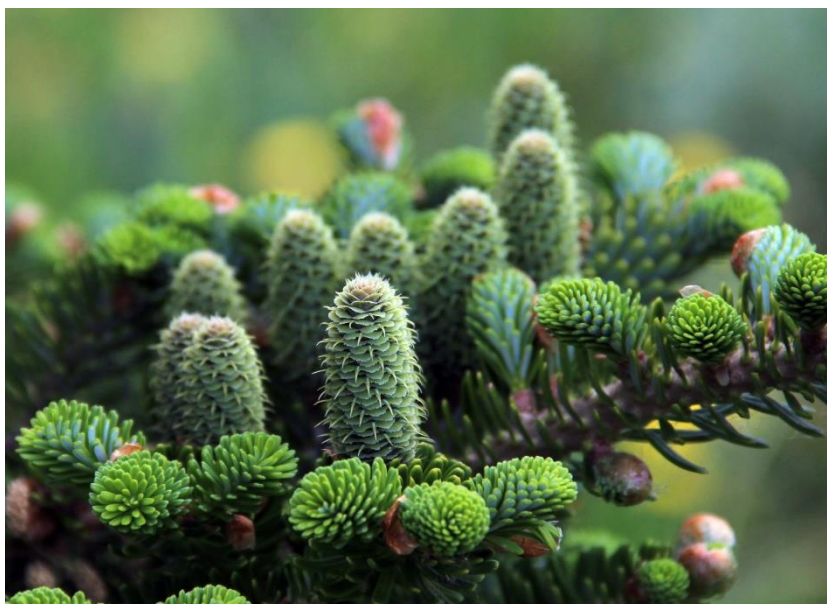


Рисунок 1 – Шишки пихты корейской

Пихта корейская произрастает в горных районах южной части Корейского полуострова, на высоте 1000-1850 м. Дерево до 15 м высотой, со стволом до 80 см в диаметре, с широкой конусовидной кроной. Кора молодых деревьев гладкая, пепельно-серая, часто с пурпурным оттенком. У старых – глубоко растрескивающаяся, красно-коричневая по трещинам. Образует чистые или смешанные леса с елью аянской и березой каменной. Отличается медленным ростом в молодом возрасте. В настоящее время пользуется большой популярностью среди профессионалов и садоводов любителей. Хорошо адаптировалась в климате Кировской области даже в условиях городской среды.

Для инокуляции семян использовали суспензии клеток ЦБ: *Nostoc paludosum* с титром  $5,7 \cdot 10^6$  кл./мл; *N. linckia* –  $6,4 \cdot 10^6$  кл./мл; *Fischerella muscicola* –  $5,9 \cdot 10^6$  кл./мл

Семена пихы проращивали методом чашечных культур в 4-х кратной повторности из расчета 50 семян на чашку, при естественном освещении на окнах.

В опытных вариантах суспензию цианобактерий вносили непосредственно поверх семян. Всхожесть определяли на 10-е и 15-е сутки, энергию прорастания – на 5-е и 7-е. Всхожесть (в том числе энергию прорастания) вычисляли как среднее арифметическое значение результатов проращивания отдельных проб семян и выражали в процентах.

Через 30 суток при пересадке всходов в контейнеры с почвой, измеряли длину корней и высоту проростков.

При анализе результатов установили, что суспензия ЦБ не значительно, но повлияла на процент всхожести семян пихты (табл. 1). Высота проростков и длина корней в опытных вариантах выше, чем в контроле. Наибольший ростстимулирующий эффект наблюдался в варианте с обработкой семян *Fischerella muscicola*.

Таблица 1

## Влияние суспензии цианобактерий на развитие пихты

№ п/п	Вариант	Всхожесть D, %	Энергия прорастания, %	Длина корня, см	Высота проростков, см
1	Контроль	52	36	2,01±0,05	2,10±0,06
2	<i>Nostoc paludosum</i>	54	38	2,46±0,07	2,05±0,11
3	<i>N. linckia</i>	52	37	2,98±0,04	2,08±0,03
4	<i>Fischerella musciicola</i>	<b>58</b>	<b>40</b>	<b>3,09±0,02</b>	<b>3,07±0,08</b>

Контейнеры, наполненные почвой с сеянцами пихты корейской осенью заглубляли в почву в открытом грунте.

Весной анализировали выживаемость посадочного материала. Инокуляция семян ЦБ несколько увеличила адаптационные способности сеянцев по сравнению с контролем: в варианте с инокуляцией семян *Nostoc paludosum* на 4,1 %, *N. linckia* – на 4,2% и *Fischerella musciicola* – 10% (таб. 2).

Таблица 2 – Влияние инокуляции семян на рост и развитие сеянцев пихты корейской

Вариант	Количество выживших растений, % от высаженных	Высота, см
Контроль	40	2,8±0,01
<i>Nostoc paludosum</i>	50	3,0±0,03
<i>N. linckia</i>	56	3,2±0,01
<i>Fischerella musciicola</i>	67	3,9±0,04

Определение наиболее эффективных способов предпосевной обработки семян и посадочного материала показало, что предпосевная инокуляция семян гомогенизированной суспензией ЦБ *Nostoc paludosum* и *N. linckia*, приживаемость растений в этих вариантах по сравнению с контролем была выше на 10 и 16% соответственно. Инокуляция семян *F. musciicola* превзошла по биометрическим показателям растения обработанные другими ЦБ.

Цианофитизация семян пихты корейской увеличила их всхожесть и положительно повлияла на рост, развитие и приживаемость сеянцев, что показало возможность использования ЦБ для предпосевной инокуляции семян пихты корейской.

## Литература

1. Третьякова А.Н., Трефилова Л.В., Домрачева Л.И., Гребнева О.И. Потенциал цианобактерий в борьбе с патогенными грибами ели//Современные

- проблемы природопользования, охотоведения и звероводства: Матер. Международной науч.-практ. конф., ВНИИОЗ. – Киров, 2002. – С. 517-518.
2. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В., Домрачева Л.И., Третьякова А.Н. Подавление микопаразитов ели и грибных заболеваний сельскохозяйственных культур с помощью цианобактерий//Проблемы лесной фитопатологии и микологии: Матер. междунар. конгресса. – М., 2002. – С. 172-175.
3. Шабалина А.В., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Эффективность использования почвенных цианобактерий при выращивании посадочного материала хвойных пород//Сохранение лесных экосистем: проблемы и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Киров: ООО «Издательство «Радуга-ПРЕСС», 2017. – С. 128-132.
4. Шабалина А.В., Козылбаева Д.В., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Зыкова Ю.Н., Фокина А.И. Влияние различных биопрепаратов на холодоустойчивость растений *Lavatera trimestris* L.//Актуальные проблемы экологии и природопользования в современных условиях: Материалы Международной научно-практической конференции. – Часть 2. – Киров: Вятская ГСХА, 2017. – С. 213-218.
5. Шабалина А.В., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Применение стимуляторов роста при выращивании посадочного материала туи западной (*Thuja occidentalis* L.)//Научные инновации – аграрному производству: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – ФГБОУ ВО Омский ГАУ, 2018. – С. 1094-1098.
6. Зыкова Ю.Н., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Перспективные методы культивирования и хранения почвенных цианобактерий как объектов агробιοтехнологии/«Научное обеспечение устойчивого развития агропромышленного комплекса горных и предгорных территорий»: Матер. Международ. научно-практ. конф. – Т. 2. – Горский ГАУ, 2018. – С. 175-178.
7. Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Роль почвенных бактерий в улучшении жизнедеятельности растений//Приемы повышения плодородия почв и эффективности удобрения: матер. Международной научно-практической конференции / редкол.: Т.Ф. Персикова (отв. ред.) [и др.]. – Горки: БГСХА, 2019. – С. 264-265.
8. Зыкова Ю.Н., Изотова В.А., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Биопрепараты как фактор регулирования ростовых процессов//Современному АПК – эффективные технологии: материалы Международной научно-практической конференции, в 5 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2019. – Т.1. Агрономия. – С. 176-180.
9. Вахрушева Н.Э., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Роль предпосевной бактериализации семян хвойных растений//Современному АПК – эффективные технологии: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2019 – Т.3. Лесное хозяйство, землеустройство и экология. – С. 44-48.
10. Рачеева Н.Э., Трефилова Л.В. Влияние способов обработки саженцев ели обыкновенной (*Picea abies*) на их приживаемость в урбаноземах// Научно-

инновационные технологии как фактор устойчивого развития отечественного агропромышленного комплекса Матер. Национальной научно-практической конф. – Рязанский ГАУ им. П.А. Костычева, 2020. – С. 153-157.

**УДК 598.1:591.53 (477.75)**

## **К ИЗУЧЕНИЮ СУАНОБАКТЕРИЯ КАМЕНИСТОЙ СУПРАЛИТОРАЛИ ПОЛУОСТРОВА МЕГАНОМ (ЧЁРНОЕ МОРЕ)**

**Садогурская С.А., Белич Т.В., Садогурский С.Е.**  
*Никитский ботанический сад – Национальный научный центр,  
sadogurska@yandex.ru*

Аннотация. Для супралиторальной зоны акватории полуострова Меганом отмечено 44 вида Cyanobacteria, 23 рода, 15 семейств, 5 порядков. Выделен комплекс ведущих видов, определены виды-индикаторы сапробности, рассчитан индекс сапробности водорослевого сообщества. Пятая часть обнаруженных видов – редкие и нуждающиеся в охране. Особенностью супралиторальной микроальгофлоры является преобладание бентосных форм, комплекса морских и солоноватоводных форм, космополитов и широкоареальных видов. Это подчёркивает азональность биотопа морской каменистой супралиторали.

Ключевые слова: Cyanobacteria; супралиторальная зона; флора; полуостров Меганом; Чёрное море

Полные списки биоты являются фундаментом, на котором строятся исследования в сфере выявления и сохранения биологического разнообразия регионов. Cyanobacteria - важный компонент морских прибрежных экосистем.

Полуостров Меганом занимает крайнюю восточную часть Южного берега Крыма (участок от Судака до Карадага), между горой Алчак на западе, до устья реки Бугаская на востоке, с севера эти земли ограничены хребтом Токлук-Сырт. Полуостров спускается к Чёрному морю четырьмя высокими мысами. В центральной части расположен мыс Меганом (Чобан-Басты), давший название всему полуострову. К западу от него – мыс Рыбачий (Кильсе-Бурун), к востоку – мыс Бугас (Капсель) и мыс Толстый. Здесь расположен комплексный памятник природы местного значения «Полуостров Меганом», площадью 651,591 га (в том числе: суши 410,065 га и акватории Черного моря 241,526 га).

Район лежит в пределах небольшого судакского синклинатория и имеет сложное геологическое строение из-за чередования глинистых сланцев, известняков, песчаников, конгломератов [1]. К морю спускаются обширные оползни, превращенные эрозией в бедленды. У берега многочисленные каменные осыпи и россыпи, крупно-глыбовые навалы. В результате расчлененность береговой зоны становится весьма разнообразной. Указанные особенности геоморфологии береговой зоны моря дают возможность существования в данном районе хорошо выраженной каменистой

супралиторали. Основную часть её альгофлоры составляют *Cyanobacteria*, благодаря которым биотоп хорошо идентифицируется визуально как тёмная полоса, расположенная выше уровня морского приобоя.

К настоящему времени накопились новые данные, требующие анализа и обобщения.

Цель работы – проведение ревизии современного видового состава *Cyanobacteria* супралиторальной зоны полуострова Меганом.

Исследования проводили в супралиторальной зоне моря, в границах комплексного памятника природы местного значения «Полуостров Меганом», на участках естественного валунно-глыбового и глыбового навалов. Идентификация видов и внутривидовых таксонов в ранге вида велась по соответствующим руководствам [2-5]. Уточнение номенклатуры и систематического положения приведены в соответствии с последними сводками [6]. Анализ полученных результатов проводили, используя методы сравнительной флористики. Характеристики видов по [7].

Всего в районе исследований отмечено 44 вида *Cyanobacteria*, из 23 родов, 15 семейств, 5 порядков и 2 подклассов.

Высокой родовой насыщенностью отличаются порядки *Chroococcales* и *Nostocales* (6 и 5 родов). Родовой насыщенностью отличаются семейства *Nyellaceae* и *Rivulariaceae* по 3 рода в каждом, в остальных семействах по одному-два рода.

Соотношение видов в подклассах одинаково: *Oscillatoriophycidae* и *Synechococcophycidae* по 22 вида. По видовой насыщенности ведущими порядками также являются *Chroococcales* и *Nostocales* (13 и 11 видов соответственно). У остальных порядков довольно высока видовая насыщенность: *Synechococcales* (9 видов), *Oscillatoriales* и *Pleurocapsales* по 6 и 5 видов. Ведущими семействами являются *Rivulariaceae* и *Chroococcaceae* (8 и 7 видов), *Heteroleibleiniaceae* и *Nyellaceae* (по 5 видов). Видовая насыщенность остальных семейств ниже: *Aphanothecaceae* и *Oscillatoriaceae* (по 3 вида), прочие семейства содержат по одному - два виду. Среди родов ведущими являются роды *Chroococcus* и *Calothrix* (по 5 видов), роды *Leptolyngbya* и *Pleurocapsa* включают по 3 вида, высока доля родов с двумя отмеченными видами – *Gloeocapsopsis*, *Nostoc*, *Rivularia*, *Lyngbya*, *Aphanocapsa*, *Tapinothrix*, *Gloeocapsa*, *Gloeotheca*, остальные роды одновидовые.

Флора цианобактерий заповедной акватории у полуострова Меганом по субстратной приуроченности представлена в основном прикрепленными видами: бентосные – 38,6 %, бентосные, почвенные – 20,5%, планктонно-бентосные – 7,7%, планктонные, почвенные – 9,1% планктонные и эпифитные по 6,8%, бентосные, эпифитные и планктонно-бентосные, эпифитные по 2,3%.

По географической приуроченности во флоре преобладают бореально-тропические – 36,4 % и космополиты – 27,3 %, отмечен высокий процент бореальных видов – 13,6 % и аркто-бореально-тропических 6,8%, для остальных видов географическая приуроченность не определена.

По галобности преобладающие значения имеет группа морских – 29,5%, высока доля пресноводных – 15,9% остальные виды относятся к переходным комплексам: солоноватоводно-морские, пресноводно-солоноватоводные по 6,8% и солоноватоводные – 2,3%. Среди видов, отмеченных в исследуемой супралиторали найдены типичные представители различных галобных групп: полигалобы (*Aphanocapsa marina*, *Lyngbya semiplena*, *Leptolyngbya halophila*, *Leptolyngbya rivulariarum* и *Pseudophormidium battersii*); мезогалобы (*Heteroleibleinia epiphytica*, *Leptolyngbya halophila*); галофилы (*Chroococcus minimus*, *Chroococcus turgidus*, *Gloeocapsa punctata*, *Gloeocapsopsis crepidinum*); индифференты (*Aphanothece saxicola*, *Chroococcus minutus*, *Gloeocapsopsis magma*, *Aphanocapsa incerta*, *Gloeothece confluens*)

Для большинства видов Cyanobacteria сапробность не определена. В районе исследований отмечены виды, являющиеся индикаторами зон самоочищения поверхностных вод (сапробность). Среди них высока доля олигосапробионтов (29,5%), далее идут олиго-бетамезосапробионты (4,5%), а также ксеносапробионты, бета-олигосапробионты, бетамезосапробионты и бета-альфа-мезосапробионты по 2,3% соответственно. Виды являются индикаторами зон различной трофности: I – ксеносапробная зона, без органического загрязнения (*Dichothrix gypsophila* - ксеносапробионт), II – олигосапробная зона, без органического загрязнения или с незначительным органическим загрязнением (*Calothrix fusca*, *Chroococcus turgidus*, *Calothrix parietina*, *Heteroleibleinia epiphytica*, *Rivularia dura* и *Tapinothrix varians* - олигосапробионты, *Chroococcus varius* и *Chroococcus minor* - олиго-бетамезосапробионты), III – бета-мезосапробная зона, среднее органическое загрязнение (*Nostoc linckia* – бета-олигосапробионт, *Aphanocapsa inserta* – бета-мезосапробионт, *Leptolyngbya foveolara* - бета-альфа-мезосапробионт). Наличие этих видов характеризуют специфику супралиторальной зоны моря. С одной стороны, водоёмы, относящиеся к I и II зонам, характеризуются высоким содержанием кислорода прозрачной, с голубым окрасом воды, а также с высоким содержанием растворенного кислорода, с малым количеством бактерий. Отмечается минерализация, которая заключается в формировании стабильных неорганических или органических остатков, для этих зон характерны организмы, чувствительные к изменениям количества растворенного кислорода, значения pH, встречаются такие чувствительные виды, как водные мхи, личинки насекомых. С другой стороны, для III зоны характерны аэробные условия, формирующиеся благодаря фотосинтетической аэрации. Вода, прозрачная или слегка мутная, не окрашенная. Характеризуется богатой погруженной растительностью, обильным количеством макрозообентоса (в частности, Mollusca, Insecta, Hirudinae и Entomostraca). Наличие таких различных видов-индикаторов отражает специфические черты супралиторальной зоны – переменное и неравномерное увлажнение пресной и солёной водой, высокий уровень инсоляции, большой температурный градиент.

По своим характеристикам виды-индикаторы, отмеченные в супралиторали полуострова Меганом, являются космополитными или



бореальными бентосными видами, солоноватоводной галобности. Эти характеристики присущи наиболее типичным видам супралиторальной зоны моря крымского побережья.

На основании индексов сапробности видов рассчитан индекс сапробности водорослевого сообщества ( $S = 0,9$ ).

В зоне супралиторали отмечены виды, предпочитающие воды умеренной текучести (*C. fusca*, *C. Brevissima*, *C. Parietina*, *Heteroleibleinia epiphytica*) и типичные аэрофиты или виды, обитающие в зоне увлажнения (*Aphanothese saxicola*, *Chroococcus turgidus*, *Ch. varius*, *Gloeocapsa punctata*, *Gloeothese palea*, *G. confluens*, *Leptolyngbya foveolaria*).

К категории редких и нуждающихся в охране относится 20,5% видов (*Chroococcus minutus*, *Chroococcus varius*, *Dichothrix gypsophila*, *Entophysalis granulosa*, *Gloeocapsa punctata*, *Homoeothrix margalefii*, *Leptolyngbya halophila*, *Lyngbya drouetii*, *Scytonematopsis crustacean*).

Таким образом, с учетом последних номенклатурно-таксономических изменений для заповедной акватории полуострова Меганом приводится 44 вида Cyanobacteria, выделен комплекс ведущих видов, пятая часть обнаруженных видов относится к категории редких и нуждающихся в охране. Отмеченное преобладание прикрепленных к субстрату бентосных форм, а также комплекс морских и солоноватоводных форм отражает характерные черты супралиторальной микроальгофлоры, а наличие различных видов-индикаторов указывает специфичность зоны супралиторали. Азональность биотопа морской каменистой супралиторали подтверждает преобладание в её составе космополитов и широкоареальных бореально-тропических видов.

#### Литература

1. Современное состояние береговой зоны Крыма/Под ред. д-ра геогр. наук Ю.Н. Горячкина; Морской гидрофизический институт (г. Севастополь). – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2015. – 252 с.
2. Komarek J., Anagnostidis K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4 – Nostocales//Arch. Hydrobiol. – 1989. – Suppl. 82, Hf. 3. (Algological Studies 56). – P. 247–345.
3. Komarek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota. 1. Teil Chroococcales. S sswasserflora von Mitteleuropa. – Jena.: Gustav Fisher Verlag., 1999. – 548 p.
4. Komarek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota. II. Oscillatoriales. S sswasserflora von Mitteleuropa. – Jena - Stuttgart - Lubek - Ulm: Gustav Fisher, 2005. – 759 p.
5. Silva P.C., Basson P.W., Moe R.L. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. – Berkeley – Los Angeles – London: California press, 1996. – 1259 p.
6. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. [World-wide electronic publication]. – National University of Ireland, Galway. – 2020. – <http://www.algaebase.org> (Searched: 25.04.2020).
7. Баринава С.С., Белоус Е.П. Царенко П.М. Альгоиндикация водных объектов Украины: методы и перспективы. – Хайфа, Киев: University of Haifa Publisher, 2019. – 367 с.

УДК 582.26+582.232, 574.23, 67.08

**СООБЩЕСТВА ФИТОПЛАСТОНА ОЗ. БАЙКАЛ:  
ХАРАКТЕРНЫЕ ЧЕРТЫ И ОСОБЕННОСТИ**

**Сапожников Ф.В.<sup>1</sup>, Калинина О.Ю.<sup>2</sup>, Ильина О.В.<sup>2</sup>,  
Колобов М.Ю.<sup>2</sup>, Ильинский В.В.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН,  
fil\_aralsky@mail.ru*

*<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
bio-energysu@mail.ru  
iov762@mail.ru*

Аннотация. По результатам сборов 2017 года проведён анализ пространственной организации микрофитного обрастания плавучего пластика (полиэтилена и полипропилена) в приповерхностном слое вод озера Байкал. Выявлены устойчиво развивающиеся иерархические структуры, формируемые комбинациями микрофитов с привязкой к типу субстрата и микротопологии его поверхности. Показана роль форм микрообрастания в дроблении макропластика на микропластик.

Ключевые слова: микрофиты, Байкал, водный пластик, обрастание, биодеструкция

Понимание процессов взаимодействия пластика, попадающего в природную среду в качестве мусора, с компонентами самой среды, становится всё более актуальным для прогнозирования поведения синтетических полимеров в составе загрязняемых ими экосистем. Одним из таких процессов является деструкция полимеров, зачастую происходящая с участием микрообрастателей.

Для оценки пластикового загрязнения вод озера Байкал в июле 2017 г. проводили сбор проб на трех участках юго-восточного побережья озера, от пос. Танхой до пос. Новый Энхалук и на участке, расположенном в средней части Байкала, в проливе Малое море, вблизи острова Ольхон. Пробы концентрировали посредством одновременной буксировки в поверхностном слое воды трех одинаковых конусообразных сетей за судном со скоростью около 2 узлов. Диаметр входного отверстия сетей составлял 20 см, размер ячеей фильтрующей части сетей – 300 мкм. Суммарная длина путей траления составила 17.78 км, площадь – 0,01068 км<sup>2</sup>. Все трансекты располагались на расстоянии до 2 км от береговой линии. При подготовке и анализе проб воды использовалась модифицированная стандартная методика, рекомендованная Национальным управлением океанических и атмосферных исследований США (NOAA) [3].

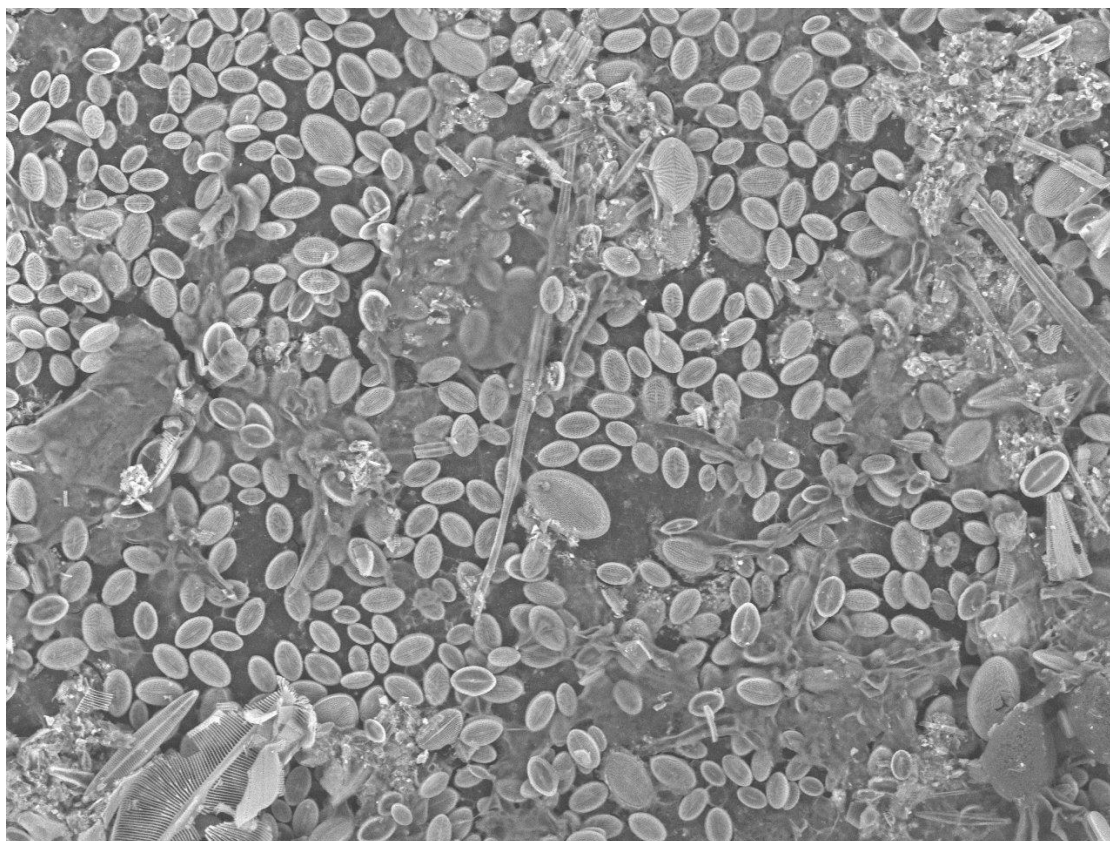
Количественное содержание пластика в поверхностных водах на обследованных станциях составило от 19 000 до 75 000 частиц/км<sup>2</sup>, в среднем 42 000 частиц на квадратный километр, массовое – от 0,4 до 20,8 граммов на

квадратный километр, в среднем 6,7 граммов на 1 квадратный километр. Следует отметить, что количественная оценка является более универсальной, поскольку менее подвержена ошибке выборки: основное количество обеспечено более равномерно распределяющимися в воде микропластиком, основная масса – макропластиком [2].

На поверхности относительно крупных фрагментов полиэтиленовых пакетов (PE-пакетов) и разорванных одноразовых стаканчиков из полипропилена (PP) был обнаружен развитый оброст, представленный сложно организованной мозаикой различных видов диатомей (на PP), а также сочетаний диатомей и цианобактерий (на PE). Наиболее простыми и, в то же время, иерархически организованными, выглядели сообщества пластона (обрастания пластика [1]) на крупных фрагментах PP. Эти ценозы были организованы почти исключительно представителями рода *Cocconeis* – но шестью различными видами и подвидами. Также здесь встречались небольшие приподнимающиеся древовидные колонии *Gomphonema* и, одиночно, короткие ветви колоний двух видов *Didymosphenia*. Особый интерес в данном случае представляли распротёртые колониальные поселения видов *Cocconeis*, формировавшиеся прямо на поверхности пластика. Отметим две их особенности: во-первых, виды *Cocconeis* формировали мозаичный ковёр, в составе которого клетки наиболее крупного вида *Cocconeis placentula* располагались одиночно, на расстоянии от 2-3 (и существенно более) длин их панцирей друг от друга; их окружали извилистые орнаменты, сформированные среднеразмерными клетками *C. lineata*, *C. placentula*, *C. fluviatilis* и *C. euglypta*, а также малоразмерными *C. lineata*, *C. euglypta* и *C. neothumensis* (рис. 1). Ещё два вида встречались значительно реже.

При этом компактные группы клеток в составе извилистых линий орнамента смешанных колониальных поселений были сформированы не одним видом, как этого можно было бы ожидать, а разнородными представителями одной размерной группы. В составе таких групп часто соседствовали клетки разных видов. Чаще всего такие компактные группы выстраивали среднеразмерные клетки, а мелкие заполняли пространство вокруг них – а также «бреши» в линиях орнамента – скорее по остаточному принципу. В свою очередь, эти извилистые линии, или не слишком строго повторяющиеся «узоры» колониальных поселений *Cocconeis* spp. были окружены сплошной каймой из слизистых колоний железобактерий.

На многих участках по краям разорванных стаканчиков PP, где оброст выглядел наиболее старым, а также особенно сильно сказывалось влияние гидродинамики, мы наблюдали большое количество неглубоких, но также извилистых трещин в поверхности PP. С высокой вероятностью, они сформировались под влиянием фотоокисления полимера солнечными лучами при параллельном воздействии гидродинамики.



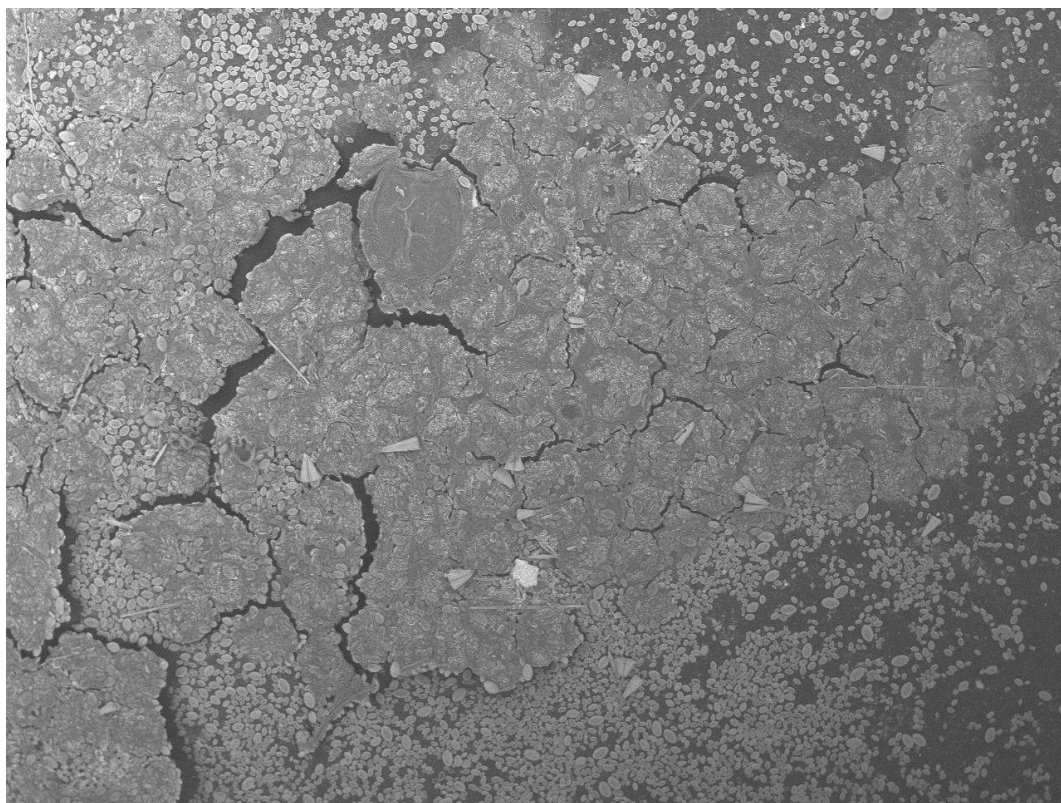
0005 2018.03.02 L x500 200 um

Рисунок 1 – Мозаика клеток разных видов *Cocconeis* на поверхности РР

Однако образование таких трещин по контурам матрикса железобактерий, окружающих линии орнамента диатомовых поселений, косвенно наводит на мысли о том, что и матрикс – как плотно связывающая субстанция – мог участвовать в образовании трещин, формируя их очертания. Тем не менее, на снимках хорошо видно, что РР трескался не по всей толще, а слоями. А затем клетки *Cocconeis* – в основном среднеразмерные и мелкие – устремлялись в эти трещины, заполняя под верхний, немного покоробившийся от трещин и потери эластичности, слой РР. Продолжая активно делиться там, под тонким слоем прозрачного полимера, эти клетки вновь формировали компактные группы, постепенно – и неотвратно – отдавливая кусочки пластика, прикрывавшие их сверху, от основной массы полимера (рис. 2). Затем эти кусочки отваливались. Обладая микроскопическими размерами, они сразу же переходили в категорию микропластика, частично обросшего *Cocconeis* spp.

В наиболее сильно деструктурированных краевых областях, где трещины становились обширнее и глубже, в них скапливался мелкий био-минеральный детрит, среди которого формировались колониальные поселения других диатомей: мелко- и среднеразмерных *Encyonema* spp., *Nitzschia frustulum* и крупноклеточных *Navicula serotina*. Эти компактные группы диатомовых панцирей также расширяли трещины.

Так, по краям стаканчика, путешествовавшего по поверхности Байкала, РР разрушался слой за слоем.



0002

2018.03.02

L x100

1 mm

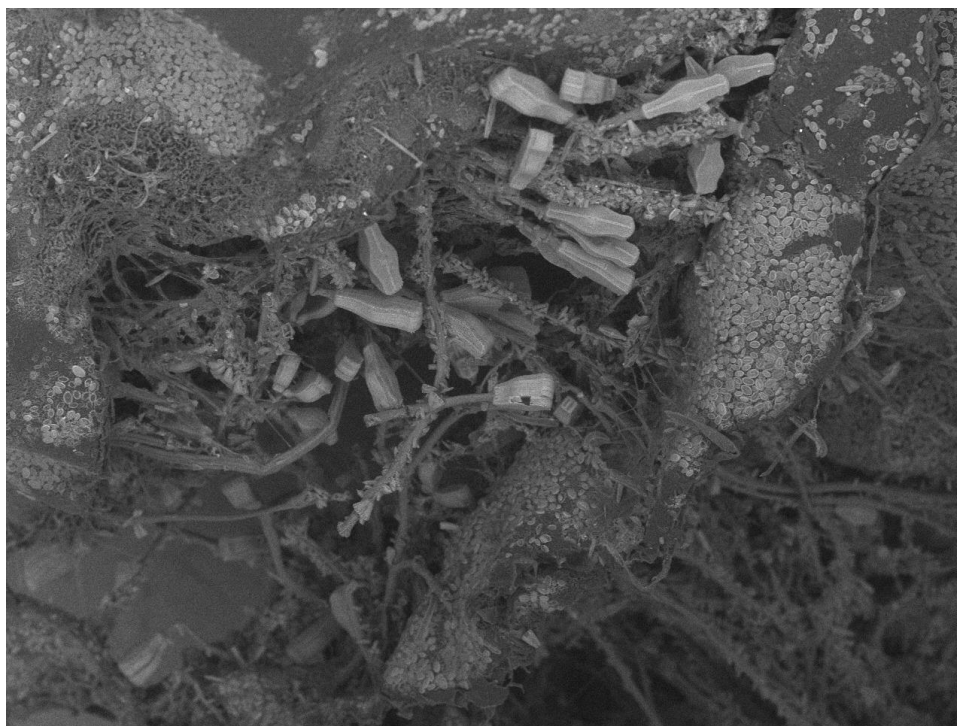
Рисунок 2 – Развитие диатомового оброста под поверхностью отслаивающихся фрагментов РР

Оброст на поверхности кусков РЕ, плавающих по поверхности Байкала, гораздо более разнообразен. Деструкция этих фрагментов полимера с участием перифитона происходит иначе. Сообщество обрастателей представлено здесь несколькими ярусами. Нижний ярус образуют диатомеи из рода *Cocconeis*: крупные *C. placentula* и *C. baikalensis* располагаются поодиночке или небольшими компактными группами. Их окружают извилистые, квазипериодически повторяющиеся «орнаменты» из среднеразмерных клеток: *C. lineata* и *C. euglypta*, среди которых изредка встречаются *C. fluviatilis* и *C. placentula*. Мелкоклеточные *C. lineata* и *C. euglypta* здесь встречаются реже, единично меж среднеразмерными клетками, в т.ч. в составе образованных ими линий, а также строят свои линии – между соседними линиями среднеразмерных. Клетки *C. neothumensis* и *C. cf. pseudothumensis* встречаются совсем редко. Сам «орнамент» из *Cocconeis* выглядит существенно более плотным. Возможно, сказывается конкуренция диатомей в этом ярусе с цианобактериями. Всё пространство между клетками *Cocconeis*, а также свободные от них участки поверхности заполняют мелкие клетки цианобактерий из семейства Chamaesiphonaceae (*Xenococcus minimus*), плотно сидящие на полимере. Местами встречаются плоские розетки зелёных многоклеточных микрофитов.

Если проводить аналогии с лесом, то мы рассмотрели ярус «мхов и низкорослых трав». Над ним поднимается ярус «кустарничков и кустов». Во-первых, этот ярус формируют колонии диатомей из рода *Gomphonema* (*G.*

*rimetii* и *G. russicum*), матрикс которых в разной степени разветвлён. Они поднимаются над открытыми (ровными) участками поверхности на (40)50 – 200-(250) мкм, формируя в разной степени раскидистые «кроны» из клеток. Во-вторых, в этом ярусе – местами в массе и густыми поселениями – развиваются колонии цианобактерий *Gloeocapsopsis magma*. Они формируют мощные складчатые структуры высотой до 100-200 (250) мкм.

Более крупные перифитонные структуры формируются в трещинах. Мы уже говорили, что полимеры в природных водоёмах становятся хрупкими. Это происходит под влиянием солнечного ультрафиолета, проникающего в толщу воды на несколько сантиметров, а также под воздействием движения воды и перепадов температур. Куски РЕ, плавающие у поверхности озера Байкал, не являются исключением: со временем они теряют эластичность и покрываются микротрещинами. На этих эрозионных участках, в трещинах, развивается «древесный» ярус оброста. По небольшим трещинам и углублениям в поверхности полимера активно разрастаются «подушковидные» (полусферические) колонии цианобактерий и нитчатых Chlorophyceae. В свою очередь, дно и стенки более глубоких трещин становятся пристанищем очень крупных (до 1000-2000(2500) мкм высотой), сильно ветвящихся колоний диатомей из рода *Didymosphenia* (рис. 3). На РЕ развиваются колонии 6-ти видов: *Didymosphenia clavamagna*, *D. curvata*, *D. dorogostaiskyi*, *D. geminata*, *D. laticollis* и, изредка, *D. grunowii*. Это практически все виды *Didymosphenia*, отмеченные для озера Байкал. Только среди природных субстратов они предпочитают селиться на камнях прибрежных мелководий, формируя слой из ветвистых колоний (мощностью 0,6-0,8 см) до глубин 1,5-2 м, а также на плавучих фрагментах дерева – более тонким налётом. А на кусках РЕ плёнки успешно развиваются по трещинам. Матрикс этих колоний служит субстратом для множества видов прикреплённых диатомей, формирующих на нём мощный микроэпифитон. Доминирует *Fragilaria pectinalis* – её мелкие клетки сидят на матриксе довольно плотным слоем (рис. 3). Среди них во множестве живут мелкие *Encyonema minutum* и *E. brevicapitatum*, *Amphora* cf. *pediculus*, *Amphora* sp. 1, *A. inariensis*, и среднеразмерные *A. metzeltinii* и *A. indistincta*, также обитающие прямо на матриксе. Здесь же сидят на полисахаридных тяжках клетки разных видов *Cymbella* (*C. stuxbergioides*, *C. stuxbergii*, *C. pseudostuxbergii*, *C. paraintermedia*, *C. microlacusbaicalensis* и *C. amplificata*) и *Rhoicosphenia* (3 вида). В тех местах, где матрикс *Didymosphenia* ветвится, часто развиваются небольшие древовидные колонии *Gomphonema*, уже описанные для открытых участков полимера, а также *Gomphonella olivacea*. Среди зарослей микроэпифитов перемещаются подвижные диатомей из родов *Navicula* (*N. baicaloradiosa*, *N. serotina*, *N. permakarevichae* и др.) и *Nitzschia* (от мелких *N. citrus* var. *appendiculata* до весьма крупных, таких как *N. nevrovae* и *N. werumiana*). Цианобактерии представлены в обросте тонкими видами *Heteroleibleinia* и компактными слизистыми колониями *Aphanocapsa* sp., развивающимися прямо на матриксе.



0029

2018.03.02

L x150 500 um

Рисунок 3 – Колония *Didymosphenia* sp., развившаяся в трещине на поверхности РЕ и обросшая микроэпифитом с преобладанием *Fragilaria pectinalis*

Также среди «древесного» яруса присутствуют и «лианы»: ветвящиеся трубчатые колонии *Nitzschia pavida*.

Заметим, что клетки видов *Navicula* и *Nitzschia*, обитая в трещинах прямо на полимере, теряли подвижность – так же, как и на РР. В особенности это относилось к *Navicula*, формировавшим на стенках трещин компактные группы неподвижных клеток.

Сквозные отверстия в РЕ обрастают цианобактериями и колониями диатомей особенно густо. Здесь преобладают трихомы цианобактерий *Leptolyngbya* spp., заполняющие пространства сквозных трещин и иных перфораций сплошной пружинящей массой.

Разрастаясь на РЕ, биоплёнка не оставляет на его поверхности свободных мест. Существенное разнообразие экологических ниш микрофитов определяет и микротопологическое разнообразие их поселений. Каждый вид – а здесь мы отмечаем 75 видов и подвидов только среди диатомей – находит себе совокупность микроместообитаний, наиболее удобных для его существования. Куски РЕ оказываются одеты биоплёнками настолько плотно, что они проникают во все трещины, и активно разрастаются там, расширяя их. А поскольку пластик становится всё более хрупким, новые трещины образуются за счёт расширения уже существующих.

Таким образом, микрофитный оброст принимает активное участие в дроблении кусков РЕ-плёнки на мелкие фрагменты (в конечном итоге – на микропластик (МП)). При этом частицы МП оказываются уже обросшими, и зачастую несут на себе макроколонии *Didymosphenia* spp. с хорошо развитым – и весьма объёмным – микроэпифитом. Это придаёт частицам МП, в

комплексе с их обростом, дополнительную массу, благодаря которой они тонут. Конечно, попадая в глубокие слои воды, клетки многих микрофитов умирают, ибо глубоководье в сотни метров не является средой их обитания. Однако, их панцири уже сами по себе обладают достаточным весом, а макроколонии и панцири *Cocconeis* крепятся к частицам довольно прочно. Так что, даже лишившись живых клеток, такие агрегаты (МП+оброст) уже не могут приобрести положительной плавучести и вернуться к поверхности.

Наши наблюдения показали, что сообщества микрофитов на поверхности камней прибрежной зоны, упомянутых выше, включают значительно большее число видов. Далеко не все из них способны переходить на плавучий пластик. Однако, довольно много байкальских видов – по большей части эндемичных – успешно колонизируют РЕ и РР. И выстраивают на этих субстратах ценозы со специфической пространственной организацией («орнаменты», ярусы, микротопология). Эти ценозы, собранные из бентических микрофитов – уже не бентос. Это – пластон, живущий у поверхности воды.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, а также при поддержке гранта РФФИ № 19-55-80004.

#### Литература

1. Калинина О.Ю., Сапожников Ф.В. Результаты исследования обрастания микроводорослями пластикового мусора//Окружающая среда и энергосведение. – 2019. – № 4. – С. 46-52. DOI: 10.5281/zenodo.3662774
2. Eriksen M., Lebreton L.C.M., Carson H.S., Thiel M., Moore C.J., et al. Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea//PLoS ONE. – 2014. – V. 9(12).
3. Masura J., Baker J., Foster G., Arthur C. Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment: recommendations for quantifying synthetic particles in watersand sediments//NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-48. – 2015. – 31 p.

УДК 579.6

### ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ЖИДКОСТИ ДЛЯ СНЯТИЯ ЛАКА С ПОМОЩЬЮ *LEPIDIUM SATIVUM* L.

Симакова В. С.

*Вятский колледж профессиональных технологий, управления и сервиса,  
vasilina.simakova.1989@mail.ru*

Аннотация. Рассматривается применение метода биотестирования, используя кресс–салат (*Lepidium sativum* L.) сорта «Данский» для определения токсичности косметических средств (гель для душа), которые являются активной основой классических моющих средств. Кроме этого, ризогенный эффект был отмечен во всех вариантах, кроме контрольного, где показатель длины корней и надземная часть проростков оказались выше.



Ключевые слова: косметические средства, биотестирование, кресс-салат (*Lepidium sativum* L.), токсичность.

Косметология – это большая, перспективная, динамичная и очень разносторонняя сфера, которая активно интегрируется с другими медицинскими специальностями и вбирает в себя самые последние достижения науки [7], что сказывается на качестве парфюмерно-косметической продукции и может являться как экологически безопасной, так и экологически небезопасной или даже опасной.

В повседневной жизни потребители постоянно и длительно применяют косметические средства, в состав которых входят различные химические соединения [6].

Высокое потребление косметических средств привело к развитию химической промышленности, что представляет особую опасность для почвенных водорослей, поскольку происходит загрязнение вод и почв поллютантами, в частности, синтетическими поверхностно-активными веществами (СПАВ), например, в г. Кирове.

Для изучения токсичности действия косметических средств используют биологические методы, которые дают интегральную оценку воздействия загрязняющих веществ на экосистемы и определяет качество среды обитания микроорганизмов. К ним относится биотестирование, с помощью которого определяют действие поллютантов на специально выбранные тест-организмы в стандартных условиях с регистрацией различных поведенческих, физиологических или биохимических показателей [1].

Одним из таких методов является метод фитотестирования, основанный на ответной реакции высших растений на негативное воздействие загрязняющих веществ. Данный метод является наиболее экспрессным и экономичным, а также обладает высокой чувствительностью, универсальностью, интегральностью, простотой и соответствует международным стандартам оценки качества почвы.

Поэтому цель данной работы – определение влияния косметических средств (жидкость для снятия лака) на энергию прорастания и морфометрические показатели кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) сорта «Данский» и возможность использования ее в качестве тест-организма для определения степени токсичности косметических средств.

Объекты и методы. В стерильные чашки Петри помещали фильтровальную бумагу, предварительно смоченную дистиллированной водой, и раскладывали по 50 семян. Повторность опыта трехкратная. Экспозиция опыта 3 суток в темноте при температуре +22-24 °С.

В качестве тест-объекта использовали семена кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) сорта «Данский», которые характеризуются быстрым ростом и развитием.

Нами была определена энергия роста семян и морфологические параметры проростков кресс-салата – длина корня и побега согласно ГОСТ 12038-84 [2] и «Методике выполнения измерений всхожести семян и длины

корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв» [5].

Перед закладкой семена проходили калибровку: с повреждениями, сколами, плесенью, недозревшие убирала.

В качестве косметических средств для исследований использовали жидкость для снятия лака трех марок в соответствии с ГОСТ 31693-2012 [3]: Severina, произведенная в ООО «Северина» (РФ, Московская область, г. Москва); Мечта, произведенная в ООО «ЭВИ Косметик Лаб» (РФ, Московская область, г. Коломна); Econta, произведенная в ООО «ПАРИС» (РФ, Московская область, г. Егорьевск); La fresh, произведенная в ООО «ЭВИ Косметик Лаб» (РФ, Московская область, г. Коломна); Мечта (для гель-лака), произведенная в ООО «ЭВИ Косметик Лаб» (РФ, Московская область, г. Коломна).

Данные косметические средства состоят из различных ингредиентов (табл. 1).

Таблица 1

Ингредиенты косметических средств в жидкостях для снятия лака

Ингредиенты косметических средств	Жидкость для снятия лака				
	Severina	Мечта	Econta	La fresh	Мечта*
Вода	–	+	+	+	–
Увлажнители кожи	–	–	Глицерин	–	Глицерин, ПЭГ-40
Ароматизаторы	Гидрогенизированное касторовое масло, парфюмерная композиция, метилэтилкетон, ацетон, изобутанол	Парфюмерная композиция, изопропанол, ацетон, бутилацетат	Гидрогенизированное касторовое масло, парфюмерная композиция, изопропанол	Гидрогенизированное касторовое масло, парфюмерная композиция, изопропанол	Гидрогенизированное касторовое масло, парфюмерная композиция, изопропанол
Растворители (солубелизаторы)	Метилэтилкетон, изобутанол, ацетон	Изопропанол, ацетон, бутилацетат	Изопропанол, этилацетат	изопропанол	изопропанол
Консерванты	изобутанол	изопропанол	изопропанол	изопропанол	изопропанол
Пенегасители	изобутанол	изопропанол	изопропанол	изопропанол	изопропанол
Стабилизаторы кислотности	изобутанол	изопропанол	изопропанол	изопропанол	изопропанол
Денатуранты	ацетон	ацетон	–	–	–
Витамины	Токоферола ацетат	–	–	–	–
Антиоксиданты	Токоферола ацетат	–	–	–	–
Кондиционеры	Токоферола ацетат	–	–	–	–
Агенты,	–	бутилацетат	–	–	–

маскирующие запах					
Красители	-	+	-	-	-

Примечание: \* – жидкость для снятия гель-лака.

В контрольном варианте зерновки кресс-салата увлажняли дистиллированной водой [4]. Во всех вариантах в течение срока экспозиции влажность в чашках Петри поддерживали на уровне 60% от полной влагоёмкости.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программ Excel и Statistica 6.0.

#### Результаты

Проведенный сравнительный анализ результатов позволил выявить различия между средними показателями при определении энергии прорастания семян кресс-салата (табл. 2).

Таблица 2

Влияние различных косметических средств на энергию прорастания кресс-салата, %

Признак	Контроль	Жидкость для снятия лака				
		Severina	Мечта	Econta	La fresh	Мечта*
Энергия прорастания, %	92±2	6±2	8±3	18±3	26±2	24±2
Количество пораженных растений, шт.	4±1	47±8	46±7	41±4	37±3	38±5
Количество пораженных растений, %	8±1	94±7	92±5	82±8	74±3	76±5

Примечание: \* - жидкость для снятия гель-лака.

Максимальные показатели энергии прорастания и минимальные значения пораженных растений имеют жидкость для снятия лака, в состав которого не входит ацетон. При этом, в таких косметических средствах, как жидкость для снятия лака, в состав которых входит ацетон, наблюдали максимальное количество пораженных растений и минимальную энергию роста по сравнению с контролем. Минимальное количество пораженных растений было в контрольном варианте (3 штуки).

Косметические средства в водных вытяжках привели к изменению длины корня и надземной части проростка кресс-салата (табл. 3).

Таблица 3

Влияние жидкостей для снятия лака на морфометрические показатели кресс-салата

Признак	Контроль	Severina	Мечта	Econta	La fresh	Мечта*
Длина корней, см	8,04±2,82	0,27±0,0 5	0,35±0,1 1	0,62±0,1 7	0,60±0,1 9	0,61±0,1 4

Надземная часть проростков, см	3,49±0,97	0,13±0,0 5	0,18±0,0 8	0,25±0,1 2	0,32±0,1 1	0,28±0,0 9
--------------------------------	-----------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------

Примечание: \* - жидкость для снятия гель – лака.

Наибольшие морфометрические показатели (длина корней и надземная часть проростков) наблюдались в контрольном варианте. Из предложенных косметических средств, максимальная длина корня была у Econta, а максимальная надземная часть – у La fresh.

Ризогенный эффект был отмечен во всех остальных вариантах, где показатель длины корней и надземная часть проростков оказались выше по сравнению с этими вариантами.

По полученным результатам был рассчитан процент ингибирования растений *T. aestivum* (табл. 4).

Таблица 4

Процент ингибирования *T. aestivum*, %

Признак	Контроль	Жидкость для снятия лака				
		Severina	Мечта	Econta	La fresh	Мечта*
Длина корней	0	96,64	95,65	92,29	92,54	92,41
Надземная часть проростков	0	96,28	94,84	92,84	90,83	91,98

Примечание: \* – жидкость для снятия гель-лака.

Во всех вариантах кроме контроля при внесении косметических средств ингибировало подземную и надземную часть проростков.

#### Выводы

1. Ингибирующее действие на развитие проростков кресс-салата оказало в контроле, а в остальных вариантах – слабое стимулирующее действие развития корней.
2. Водные вытяжки исследуемых образцов отрицательно влияют на рост и развитие высших растений.
3. Таким образом, доказанная нами токсичность косметических средств требует проведения дополнительных исследований, которые бы показывали, что произойдет с растениями при дальнейшем увеличении концентрации косметических средств.

#### Литература

1. Бакаева Е.Н. Методико-методологические аспекты биотестирования с использованием гидробионтов, обладающих гетерогонией/Е.Н. Бакаева// Современные методы исследования и оценки качества вод, состояния водных

- организмов и экосистем в условиях антропогенной нагрузки: Материалы школы – семинара. – Борок, 2008. – Часть 3. – С. 3 – 5.
2. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями № 1, 2, с Поправкой). – М.: Стандартиформ, 2011. – 64 с.
  3. ГОСТ 31693-2012 Продукция косметическая для ухода за ногтями. Общие технические условия. – М.: Стандартиформ, 2013. 16 с.
  4. ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия. М.: Стандартиформ, 2006. – 11 с.
  5. Методика выполнения всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв М-П-2006. Федеральный реестр ФР.1.39.2006.02264.
  6. Митрохин О.В., Гигиеническая классификация косметических средств//Здоровье населения и среда обитания. – 2013. – № 5 (242). – С. 4-6.
  7. Эрнандес Е.И., Юцковская Я.А. Новая косметология. Основы современной косметологии. М.: ООО «ИД «Косметика и медицина», 2019. – 500 с.

**УДК 504.064**

## **СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ БИОПЛЁНОК ЦИАНОБАКТЕРИЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К ИОНАМ МЕДИ(II)**

**Скугорева С.Г.<sup>1</sup>, Домрачева Л.И.<sup>1,2</sup>, Кантор Г.Я.<sup>1,3</sup>, Фокина А.И.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,

<sup>2</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

<sup>3</sup>Вятский государственный университет,

*e-mail: skugoreva@mail.ru*

Аннотация. Целью работы было определение сорбционной активности цианобактерий *Fischerella muscicola*, *Nostoc muscorum* и *N. paludosum* в моно- и в трёхвидовой биоплёнках (БП). Установлено, что наибольшей скоростью сорбции характеризуются моновидовые БП *F. muscicola* и *N. paludosum*. Наибольшая емкость сорбции характерна *N. paludosum* и для трёхкомпонентной БП. Между показателем концентрации иона ТМ в растворе и рН отмечалась достаточно тесная корреляционная связь, что может быть обусловлено ионообменным механизмом сорбции.

Ключевые слова: цианобактерии, биоплёнки, биосорбция, ионы меди(II).

Цианобактериальные биоплёнки (БП) чрезвычайно широко распространены в различных типах почв во всем мире [1]. Доказано, что цианобактерии (ЦБ), входящие в состав БП, выделяют экзометаболиты, которые препятствуют проникновению внутрь поллютантов различной химической природы, сорбируя и связывая их [2]. Кроме того, сами ЦБ, а, следовательно, и формируемые ими БП, являются хорошими сорбентами таких опасных загрязнителей окружающей среды, как тяжёлые металлы (ТМ) [3].

Целью данной работы было определение сорбционной активности цианобактерий *Fischerella muscicola*, *Nostoc muscorum* и *N. paludosum* в моно- и в трёхвидовой биоплёнках.

Модельный опыт проводили в микрокосмах со стерильным песком в чашках Петри. Для искусственного создания БП использовали гомогенизированные альгологически чистые культуры ЦБ, выращенные в течение 30 дней в жидкой питательной среде Громова № 6 без азота. Далее вносили по 30 см<sup>3</sup> жидкости, содержащей ЦБ: в монокультурах объёмное соотношение суспензии ЦБ и среды Громова № 6 без азота 1:2; в тройной – по 10 см<sup>3</sup> суспензии каждого вида ЦБ. В ходе опыта чашки Петри экспонировали в течение 30 сут до достижения в одном из вариантов 100% покрытия песка плёнками ЦБ.

Перед проведением эксперимента по изучению кинетики сорбции ионов меди(II) биомассу БП ЦБ извлекали из чашек Петри, тщательно отмывали от песка и питательной среды дистиллированной водой. Все БП высушивали до постоянной массы, измельчали и растирали в фарфоровой ступке. Измерение содержания ионов меди(II) в растворе проводили потенциометрическим методом на иономере «Эксперт-001», подключённом к персональному компьютеру, с ионоселективным электродом, чувствительным к концентрации ионов меди(II) в водном растворе. Опыт проводили с использованием магнитной мешалки.

В стакан наливали 50 мл раствора нитрата меди(II) с концентрацией 10<sup>-4</sup> моль/л, погружали в раствор магнит, ионоселективный электрод, рН-электрод и двухключевой электрод сравнения, включали мешалку [3]. Затем запускали программу приёма данных с иономера «Эксперт-001». Пробы сухих сорбентов взвешивали, затем быстро вносили в стакан с раствором нитрата меди(II). Для приёма и обработки данных использовали программу EXP2PR, разработанную ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ» (версия от 26.03.2018), которая позволила в режиме реального времени записывать кривые кинетики сорбции и изменения рН раствора.

При описании кинетики сорбции использовали модели псевдо-первого и псевдо-второго порядков, модифицированную модель второго порядка и модель Еловича [3][6]. Значения параметров кинетических моделей сорбции, усреднённые за полное время каждого измерения, были найдены методом наименьших квадратов при помощи надстройки «Поиск решения» программного пакета Microsoft Office Excel. При подборе модели кинетики сорбции рассчитывали коэффициент детерминации  $r^2$  по формуле:

$$r^2 = 1 - \frac{D_1}{D_2}, \quad (1)$$

где  $D_1$  – дисперсия разности экспериментальных и расчётных данных;  $D_2$  – дисперсия экспериментальных данных.

Для установления модели, оптимально описывающей сорбцию ионов меди(II) БП, сравнивали коэффициенты детерминации  $r^2$  (табл. 1).

Таблица 1

Результаты обработки ( $r^2$ ) моделями химической кинетики  
кинетических кривых сорбции  $\text{Cu}^{2+}$  биопленками

Биопленка-сорбент	Модели кинетики сорбции			
	псевдо-первого порядка	псевдо-второго порядка	модифицированно го второго порядка	модель Елович а
<i>N. paludosum</i>	0,96	<b>0,994</b>	<b><u>0,994</u></b>	0,92
<i>N. muscorum</i>	0,92	<b>0,96</b>	<b><u>0,96</u></b>	0,92
<i>F. muscicola</i>	0,87	<b>0,98</b>	<b><u>0,98</u></b>	0,93
<i>F. muscicola</i> + <i>N. paludosum</i> + <i>N. muscorum</i>	0,78	0,89	<b><u>0,94</u></b>	<b>0,93</b>

*Примечание:* жирным шрифтом выделены высокие значения, жирным шрифтом с подчеркиванием  максимальные значения.

Для всех исследованных БП наиболее приемлемой оказалась модель модифицированного второго порядка. Это относится к моно- и трёхкомпонентной биоплёнке. Результаты по моделям сорбции для *N. paludosum* хорошо согласуются с ранее полученными данными [3]. Модель модифицированного второго порядков предполагает, что химическая реакция обмена лимитирует процесс сорбции. Реакция между сорбатом и функциональной группой сорбента является реакцией второго порядка [4].

Таким образом, для всех БП отмечались высокие и максимальные значения коэффициента детерминации ( $r^2 = 0,93\text{--}0,994$ ) по модели модифицированного второго порядка, которая описывается уравнением:

$$a_t = a_e \cdot \left( 1 - \frac{1}{b + k_2' t} \right), \quad (2)$$

где  $a_t$  – зависящая от времени удельная масса сорбата (отношение массы сорбированного вещества к массе сорбента),  $a_e$  – равновесная (предельная) удельная масса сорбата (мг/г);  $k_2'$  – константа скорости сорбции модели модифицированного второго порядка ( $\text{с}^{-1}$ ),  $b$  – параметр уравнения модифицированного второго порядка. Чем выше  $k_2'$ , тем выше скорость сорбции; чем выше  $a_e$ , тем выше сорбционная ёмкость сорбента.

Данные по сравнению параметров модели сорбции модифицированного второго порядка приведены в таблице 2. Значения кинетического коэффициента  $k_2'$  были относительно высоки для моновидовых биоплёнок *N. paludosum* ( $0,0201 \text{ с}^{-1}$ ) и *F. muscicola* ( $0,0254 \text{ с}^{-1}$ ). В два раза меньшей скоростью характеризовался процесс сорбции ионов меди(II) из раствора БП *N. muscorum* и трёхкомпонентной БП.

Равновесная удельная масса сорбата варьировала в пределах от 7,27 до 16,48 мг/г (рис. 2). Наибольшая сорбционная ёмкость определена для *N. paludosum* (16,48 мг/г) и трёхкомпонентной БП (15,48 мг/г). Для *F. muscicola* равновесная масса сорбата была несколько ниже – 11,82 мг/г. Минимальным

значением емкости характеризовалась моновидовая плёнка на основе *N. muscorum*.

В отличие от модели псевдо-второго порядка модель модифицированного второго порядка учитывает то, что адсорбция в начальный момент времени при  $t_0 \approx 0$  может происходить практически мгновенно, поэтому она не равна нулю:  $a = a_0 \neq 0$ . В связи с этим вводится поправочный коэффициент  $b$  ( $b \geq 1$ ):

$$b = \frac{1}{1 - \theta_0}.$$

Исходя из значений  $b$ , рассчитывали начальное покрытие поверхности сорбента  $\theta_0$ , которое равно отношению  $a_0/a_e$  [5]. Для БП *F. muscicola* и трёхкомпонентной БП коэффициент  $b$  был больше единицы, начальное покрытие сорбатом поверхности сорбента  $\theta_0$  составило 10,37 и 26,47% предельной удельной массы сорбата, т. е. в начальный момент времени сорбция ионов меди из раствора была не равна нулю. Для *N. paludosum* и *N. muscorum* значения  $b$  близки к 1, а  $\theta_0$  к нулю.

Таблица 2

Параметры модели модифицированного второго порядка для описания сорбции ионов меди(II) различными био пленками

Биопленка-сорбента	Кинетический коэффициент, $k_2, \text{с}^{-1}$	Равновесная масса сорбата, $a_e, \text{мг/г}$ сорбента	$b$	$\theta_0$
<i>N. paludosum</i>	0,0201	16,48	1,0018	0,0018
<i>F. muscicola</i>	0,0254	11,82	1,1157	0,1037
<i>N. muscorum</i>	0,0128	7,27	1,0000	0,0000
<i>F. muscicola</i> + <i>N. paludosum</i> + <i>N. muscorum</i>	0,0125	15,48	1,3601	0,2647

При проведении опытов по сорбции производили измерение pH раствора. Добавка биомассы БП приводила к незначительному снижению pH на 0,05–0,25 ед. pH, исключение составила БП *N. paludosum* (табл. 2). Для *F. muscicola* и трёхкомпонентной БП снижение pH было более заметным – 0,23–0,25 ед. pH. Затем постепенно в процессе сорбции pH раствора несколько возрастал. При этом между показателем концентрации иона ТМ в растворе и pH наблюдалась достаточно тесная корреляционная связь: коэффициент корреляции составил 0,86–0,994. Таким образом, в ходе сорбции наряду со снижением концентрации ионов ТМ в растворе происходило снижение концентрации протонов. Возможная причина: ионный обмен ионов меди с другими катионами сорбента-БП, например, ионами калия, магния или кальция, что требует дальнейшего изучения.

Таблица 3

pH раствора при сорбции ТМ био пленками: изменение и связь  $pK(\text{ТМ}^{2+})$



Сорбент	Снижение рН в начале сорбции, ед.	Коэффициент корреляции ( <i>r</i> ) между рН и рК в ходе сорбции
<i>N. muscorum</i>	0,05	0,86
<i>N. paludosum</i>	0,00	0,994
<i>F. muscicola</i>	0,23	0,992
<i>F. muscorum</i> + <i>N. paludosum</i> + <i>N. muscorum</i>	0,25	0,989

Таким образом, кинетика сорбции ионов меди(II) из раствора нитрата меди с концентрацией  $10^{-4}$  моль/л хорошо описывается моделью модифицированного второго порядка. Наибольшей скоростью сорбции характеризуются моновидовые БП *F. muscicola* и *N. paludosum*. Наибольшая емкость сорбции характерна *N. paludosum* и для трёхкомпонентной БП. Между показателем концентрации иона ТМ в растворе и рН наблюдалась достаточно тесная корреляционная связь, что может быть обусловлено ионообменным механизмом сорбции.

**Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.**

#### Литература

1. 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.
2. Домрачева Л.И., Фокина А.И., Ковина А.Л., Ашихмина Т.Я. Экзометаболиты почвенных цианобактерий как стратегия выживания в естественных и техногенно нарушенных экосистемах//Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – № 4. – С. 15-23. doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-015-023.
3. Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И., Кутявина Т.И. Сравнительный анализ эффективности использования сорбентов различной природы по отношению к ионам меди(II)//Теоретическая и прикладная экология. – 2018. – № 3. – С. 12-18. doi: 10.25750/1995-4301-2018-3-012-018
4. Ho Y.S., Ng J.C.Y., McKay G. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review // Separ. Purif. Methods. – 2000. – V. 29. №. 2. – P. 189-232. doi: 10.1018/SPM-100100009.
5. Cheung W.H., Ng J.C.Y., McKay G. Kinetic analysis of the sorption of copper(II) ions on chitosan//J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2003. – V. 78. №. 5. – P. 562-571. doi: 10.1002/jctb.836.
6. Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И. Биосорбция тяжёлых металлов микромицетами: особенности процесса, механизмы, кинетика // Теоретическая

УДК 57.044

## ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА ПЕДОБИОТУ УРБАНОЗЕМОВ

**Трифонов Р.Н., Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
nm-flora@rambler.ru*

**Аннотация.** Приведены результаты агрохимических анализов и биодиагностики урбаноземов. Динамика содержания тяжелых металлов в исследованных почвообразцах показала непостоянный уровень выбросов загрязняющих веществ, который обусловлен климатическими, экономическими и социальными факторами. Древесная растительность способна снизить содержание поллютантов в городских почвах.

**Ключевые слова:** биодиагностика, тяжелые металлы, урбаноземы.

Антропогенное воздействие становится преобладающим в городской среде над естественными факторами почвообразования, формируя в новых экологических условиях специфические типы почв и сильно влияя на микрофлору и микробиоту урбаноземов [1]. Городские почвы выполняют различные экологические функции, главные из которых их пригодность для произрастания зеленых насаждений, способность адсорбировать в толще загрязняющие вещества, а также удерживать их от проникновения в почвенно-грунтовые воды и от поступления в виде пыли в городской воздух [2, 3].

В результате интенсивного антропогенного воздействия в почвах начинаются негативные процессы, ухудшающие их качество вследствие нарушения и разрушения почвенного профиля, дегумификации, переуплотнения, нарушения водно-воздушного, теплового, пищевого и газового режимов, химического и биологического загрязнения, сокращения биоразнообразия [4].

Гетерогенность экологической среды городов оказывает влияние на повышение видового богатства растений. Этот процесс усиливается также интродукцией декоративных и других форм, используемых для озеленения территории городов. Флористическое богатство повышается при наличии в городах большего количества категорий экотопов и падает в случае преобладания однообразно промышленно трансформированной среды. Количество видов флоры повышает наличие на территории городов рек или других водоемов, а также сохранность естественных фрагментов почв. Аналогичным образом сказывается и уровень развития транспортных сетей.

Важную роль в флорогенезе городов играет отбор видов по их устойчивости к тяжелым металлам (ТМ) в почвах. Некоторые виды имеют эффективные механизмы защиты от подобного рода стресс-факторов:

сниженную проницаемость мембран для тяжелых металлов и повышенную устойчивость к их токсическому действию [5]. Растения быстро перемещают ТМ в вакуоли и межклетники, переводят в нерастворимые формы, или имеют ферменты, ингибирующие их действие. Устойчивость одного и того же вида растения к разным ТМ неодинакова. Так, *Festuca ovina* устойчива к свинцу, *Agrostis tenuis* и *Anthoxanthum odoratum* – к цинку и меди. Но есть виды растений, устойчивые сразу к большой группе тяжелых металлов. Хотя, как у сравнительно устойчивых, так и у мало устойчивых видов растений, ТМ снижают продукционный процесс. Происходит это, в основном, из-за нарушений структуры и функционирования ассимиляционного аппарата.

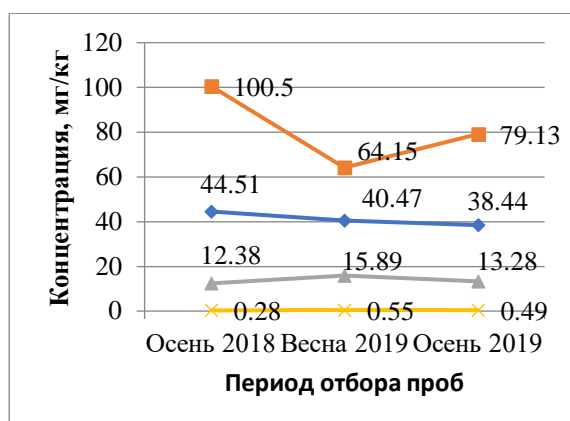
Цель работы – выяснить влияния определенных видов древесной растительности на состояние микробиоты урбаноземов г. Кирова.

Для выделения почвенных фототрофов и микромицетов использовался метод чашечных культур со стеклами обрастания. Почву весом 30 грамм помещали в стерильные чашки Петри, после чего увлажняли дистиллированной водой. На поверхность почвы выкладывали покровные стекла в количестве 6 штук. Чашку датировали и оставляли на свету и по мере необходимости вновь увлажняли. После проводили подсчет микроорганизмов с помощью светового микроскопа (рис. 1) и определяли их видовую принадлежность.

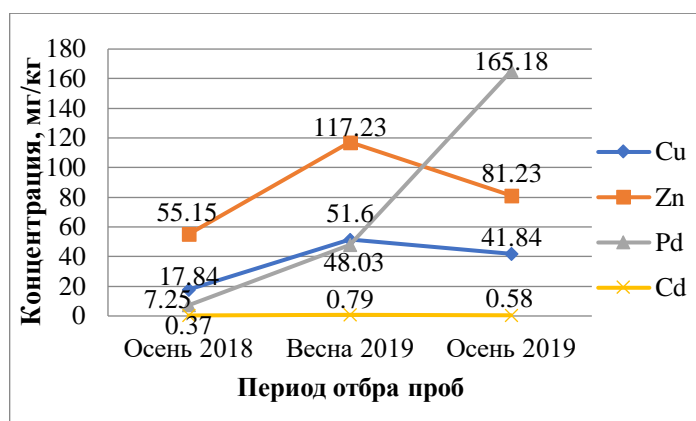


Рисунок 1 – Культуры микроорганизмов при 40 кратном увеличении.

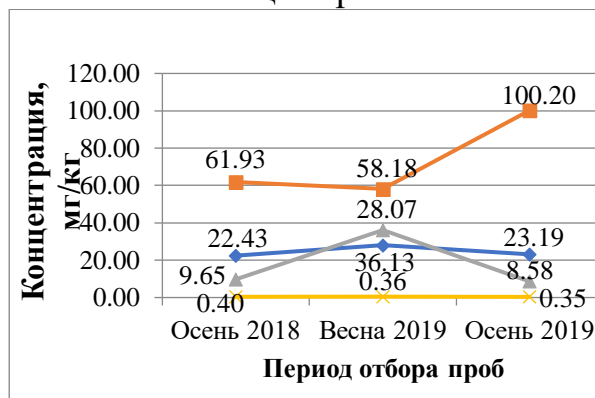
Анализ исследуемых почвенных образцов городских территорий в сезонной динамике показателей концентраций ионов ТМ (рис. 2) показал, что превышение концентрации ионов цинка осенью 2018 (на 0,5 мг/кг), отмечено только под лиственницей европейской.



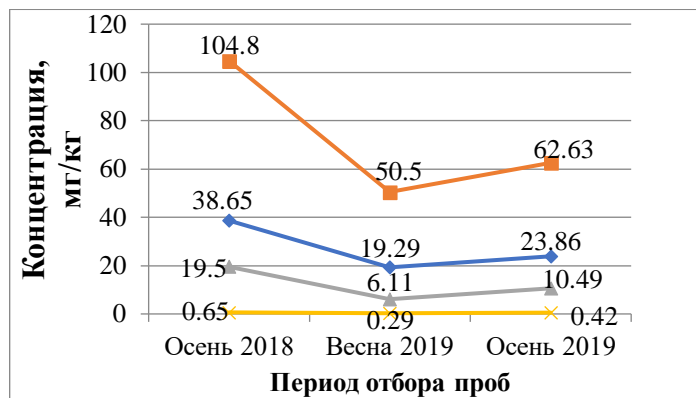
лиственница европейская



ель колючая



липа сердцевидная



травянистая растительность

Рисунок 2 – Сезонные изменения концентрации ТМ за исследуемый период (мг/кг)

Также в почве под лиственницей отмечено общее снижение концентрации ТМ, кроме цинка, который после некоторого снижения снова увеличивает свое присутствие в почве исследуемого образца.

Превышение ПДК под елью колючей весной 2019 года по цинку составило 17,23 мг/кг, по меди 1,6 мг/кг, по свинцу 122,85 мг/кг. По свинцу норма содержания ионов в городских почвах оказалась превышена и составила 3,8 ПДК.

Анализ годовой динамики содержания свинца под елью показал почти десятикратное увеличение его содержания в почве, что может говорить о накоплении этого металла, а соответственно и в произрастающей на данной территории растительности.

Тенденции к увеличению концентрации по другим ТМ под елью не обнаружено, несмотря на это, текущие показатели остаются весьма высокими.

Превышение ПДК под липой сердцевидной обнаружено осенью 2019 по цинку на 0,20 мг/кг. Концентрация данного металла за 6 месяцев 2019 года увеличилась в 1,7 раза. Концентрация свинца уменьшилась в 3,5 раза, значения кадмия и меди особенных изменений не претерпели.

Сравнивая полученные показатели под травянистой растительностью с ПДК городских почв, можно отметить общую тенденцию к снижению концентрации 4 исследуемых металлов, исключая только превышение ПДК по цинку осенью 2018 года на 4,8 мг/кг. После весны 2019 года, замечено

постепенное повышение концентраций ионов ТМ, что может говорить о наличии волнообразных изменений в содержании ТМ в почвах под травянистой растительностью. По результатам химического анализа 4 образцов урбаноземов г. Киров можно отметить, что самая высокая степень загрязнения ТМ присуща образцу почвы под елью колючей, обнаружены превышения ПДК цинка, свинца. Показатели меди находятся в пределах 0,95 ПДК, что также указывает на сильное воздействие поллютантов на данную территорию.

Особое опасение вызывает восходящий тренд накопления ионов свинца и цинка, и превышение предельно допустимых концентраций в образце под елью сибирской в 3,5 раз, и 1,17 раз соответственно.

Параллельно с химическим анализом исследуемых почв анализировали влияние древесной растительности на микрофлору урбаноземов г. Кирова методами микробной диагностики и фитотестирования, которая оказалась неоднозначной.

Сопоставление результатов агрохимических измерений и биодиагностики изучаемых проб урбаноземов показывает проблему, которая сопровождает изучение почв под различной растительностью: загрязняющие вещества в окружающей среде представлены различными формами, что затрудняет обработку получаемых данных и их интерпретацию. Также важным фактором являются изменяющиеся климатические условия и непостоянный уровень выбросов загрязняющих веществ, который зависит более от экономических и социальных факторов.

Пробы урбаноземов, отобранные на территории г. Кирова, загрязнены соединениями меди, свинца, кадмия и цинка, однако такое состояние не отразилось в значительной степени на использованных тест-растениях.

Доля пораженных семян находится в пределах 28,15% у ели и 25% у проб из под травянистой растительности. Таким образом, корреляции между наличием и отсутствием древесного растения-эдификатора и степенью токсичности не найдено.

В пробах почв под древесной растительностью полностью отсутствуют диатомовые водоросли, а в пробе под лиственницей отсутствуют еще и цианобактерии, что является крайне противоречивым фактом и требует дальнейших исследований.

Для более точного анализа пригодности растений-эдификаторов для развития и жизнедеятельности различных типов микроорганизмов (в том числе альгофлоры), имеет смысл сравнить полученные показатели с данными микробиологического анализа полевого агрофитоценоза (табл. 1).

Таблица 1

Количественный состав основных типов микроорганизмов в почвах отобранных образцов под древесной растительностью в сравнении с полевым агрофитоценозом КОЕ/г•10<sup>3</sup>

Вариант	Фототрофы	Микромицеты	Альгофлора	Гетеротрофы	Общая численность
Лиственница европейская	247±88	<b>461±79</b>	40,0 ± 14,2	<b>1380±170</b>	<b>2088±337</b>

Ель сибирская	129±7	92±35	417,5 ± 142,5	940±72	1448±203
Липа сердцевидная	247±88	54±8	<b>502,0 ± 87,0</b>	473±197	656±212
Травянистая растительность	<b>316±79</b>	146±83	300,0 ± 88,0	290±42	752±204
Агро фитоценоз	20,2±90	27,3±36	319±7,4	52,5±26	419,0±87, 4

*Примечание: жирным шрифтом выделены максимальные значения*

Наибольшее количество микроорганизмов зафиксировано в почвах под хвойной растительностью: лиственницей европейской –  $2088 \pm 337$  КОЕ/г· $10^3$  и елью колючей  $1448 \pm 203$  КОЕ/г· $10^3$ . Данные значения достигнуты, в основном, из-за преобладающего количества сапрофитных и аммонифицирующих микроорганизмов.

Если проанализировать количественный состав микроорганизмов в контрольном варианте, взятым из почв полевого агрофитоценоза, то можно заметить, что он является самым малонаселенным из представленных проб, что может свидетельствовать о наличии связи между количеством живущих в почве микроорганизмов и растением-эдификатором данной территории.

Несмотря на этот факт, весьма комфортным для своей жизнедеятельности находят почвы под травянистой растительностью городских почв и полевых представители альгофлоры  $300,0 \pm 88,0$  и  $319 \pm 7,4$  КОЕ/г· $10^3$ .

Также нельзя не отметить, что полевые почвы по количеству загрязняющих веществ будут уступать городским биоценозам, что будет предохранять их от развития различных заболеваний и мутаций микроорганизмов, наблюдающихся в городских почвах.

Подтверждением разнообразия микробных группировок изучаемых почв служат показатели их структуры, подобные данные были сформированы и представлены на рисунке 3.

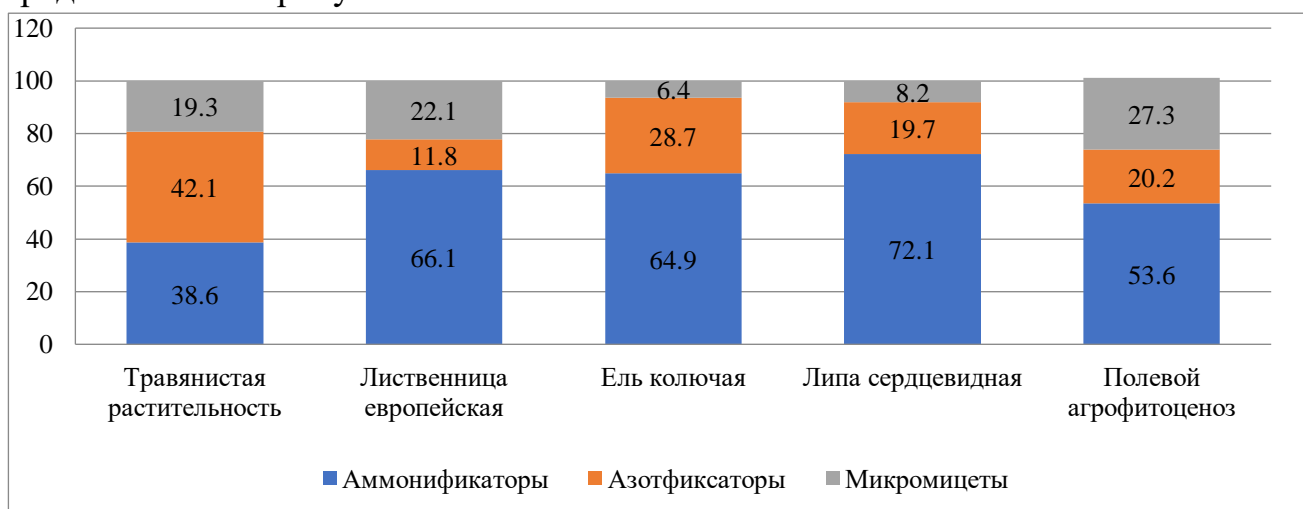


Рисунок 3 – Структура микробиотического комплекса в образцах почвы под различной растительностью, %

Особенностью всех исследованных в данном опыте урбаноземов является содержание микромицетов – ниже, чем в луговых и лесных почвах. В то же время наблюдается сдвиг доминирования от аммонификаторов к азотфиксаторам в почвах под травянистой растительностью. Пик доминирования аммонифицирующих бактерий (более 72,1%) отмечен в пробах под липой сердцевидной. Наибольшее количество азотфиксаторов (более 42%) установлен в образцах из-под травянистой растительности.

Самой малочисленной группой микроорганизмов оказалась группа почвенных микромицетов. Их невысокая численность, по сравнению с остальными изученными пробами (54-461 тыс. КОЕ/г) свидетельствует о малой обеспеченности исследуемых урбаноземов свежим органическим веществом.

Такое положение дел создается в подобных почвах достаточно часто, ведь урбаноземы могут являться весьма закрытыми системами в силу их расположения внутри антропогенно-измененной инфраструктуры (парки, придорожные насаждения, цветники, клумбы, скверы). На перечисленных территориях перенос органического вещества затруднен, часть древесного опада изымается из экосистемы, а внесение минеральных веществ непостоянно.

Опираясь на полученные результаты химического анализа, микробиологического анализа, а также биотестирования и биоиндикации можно сделать вывод о том, что древесная растительность оказывает сильное воздействие на жизнедеятельность и жизнеспособность микробиологических группировок. Она влияет на их количественный и качественный состав. Под отдельными деревьями может создаваться изолированный микробиом в котором возможно создание аномальных условий развития для микрофлоры урбаноземов.

#### Литература

1. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю., Трефилова Л.В., Вахмянина С.А., Трушников П.А. Оценка влияния почвенной цианобактерии *Nostoc paludosum* на растения ячменя//Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров: ВятГУ, 2019. – С. 227-231.
2. Домрачева Л.И., Трифонов Р.Н., Изотова В.А., Вахрушева Н.Э., Трефилова Л.В. Использование методов химического и микробиологического анализа для диагностики состояния почв г. Кирова//Мелиорация почв для устойчивого развития сельского хозяйства. В 2 ч.: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ч. 1. – Киров: Вятская ГСХА, 2019. – С. 76-81.
3. Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Особенности альго-цианобактериальных комплексов различных экотопов // Мелиорация почв для устойчивого развития сельского хозяйства. В 2 ч.: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ч. 1. – Киров: Вятская ГСХА, 2019. – С. 156-164.
4. Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Биологические методы анализа урбаноземов//Современному АПК – эффективные технологии: материалы

Международной научно-практической конференции. В 5 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2019 – Т.1. Агрономия. – С. 180-184.

5. Фокина А.И., Лялина Е.И., Трефилова Л.В., Ашихмина Т.Я. Отклик почвенной цианобактерии на действие сульфата меди (II) в присутствии глутатиона восстановленного//Теоретическая и прикладная экология. –2019. – №3. – С. 101-108. DOI: 10.25750/1995-4301-2019-3-101-108.

**УДК 582.26**

## **ВОДОРΟΣЛИ В ДЕРНОВО-КАРБОНАТНЫХ АНТРОПОГЕННО-НАРУШЕННЫХ ПОЧВАХ ПРИБАЙКАЛЬЯ**

**Тупикова Г.С., Егорова И.Н., Шергина О.В.**

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,  
galina93shambueva@mail.ru, egorova@sifibr.irk.ru, sherolga80@mail.ru*

Аннотация. Приведены сведения о водорослях антропогенно-нарушенных и ненарушенных дерново-карбонатных почв под травянистой растительностью в окр. с. Баяндай (Прибайкалье, Иркутская область). Выявлено 33 вида из отделов Cyanoprokaryota – 11 видов, Bacillariophyta – 4 вида, Ochrophyta – 3 вида, Chlorophyta – 14 видов, Streptophyta – 1 вид. Значительную биомассу в исследованных сообществах формирует *Nostoc commune*.

Ключевые слова: водоросли, биоразнообразие, дерново-карбонатные почвы, Прибайкалье.

В июле 2018 г. нами были отобраны почвенно-альгологические образцы в травянистых растительных сообществах в окр. с. Баяндай Иркутской области. Территория в альгологическом отношении не изучена. Цель изысканий заключалась в установлении видового разнообразия водорослей антропогенно-нарушенных и ненарушенных почв под травянистой растительностью.

Согласно почвенно-экологическому районированию [8], исследуемая территория принадлежит равнинной провинции высоко-, средне- и низковысотных плато Иркутского амфитеатра, где развиты средне- и относительно мощные, преимущественно суглинистые, слабокислые и нейтральные, недостаточно и временно избыточно увлажненные, умеренно холодные и умеренно длительнопромерзающие почвы с растительностью средней и повышенной продуктивности. В районе изысканий преобладают настоящие степи: разнотравно-злаковые, злаково-разнотравные и злаковые [8].

Для исследований нами были выбраны растительные сообщества вблизи Качугского тракта (Иркутск-Качуг), автотрасса Р-418, которая приобрела современный облик в 30-е гг. прошлого века. По обочинам дороги размещены насыпи (отвалы) местами высотой до 2-3-х м и более, образованные в результате вскрыши почвы при строительстве дороги. На насыпях сформировались группировки растительности со значительным развитием



злаков. В напочвенном покрове этих сообществ широко представлен *Nostoc commune* Vaucher et Bornet et Flahault (Цианопрокариота), что и обусловило интерес авторов к проведению здесь почвенно-альгологического изыскания. Нами были заложены три учетные площадки размером 100 м<sup>2</sup> в разных почвенно-растительных условиях: на вершине одной из насыпей и в переходных к естественным сообществам участках, где отмечены макроскопические колонии ностока. Отбор проб проводился в соответствии с рекомендациями для почвенно-фикологических исследований [7]. Определяли сухой вес макроскопических колоний *Nostoc commune* прямым взвешиванием с площадок в 100 кв. см в 10-кратной повторности на каждой ПП. Видовой состав водорослей изучали методами прямого микроскопирования и культивирования. Методы, состав сред, источники для определения видов, принятая система отделов публиковались ранее [2, 3].

Нами установлено, что исследованные почвы принадлежат к дерново-карбонатному типу со слабокислой и нейтральной реакцией среды. Кислотность среды органической подстилки и верхних гумусовых горизонтов постепенно снижалась при переходе от ненарушенных к антропогенно-нарушенным почвам.

Всего в настоящее время выявлено 33 вида водорослей из шести отделов: Цианопрокариота – 11 видов, Bacillariophyta – 4 вида, Ochrophyta – 3 вида, Chlorophyta – 14 видов, Streptophyta – 1 вид. Обнаружены, в целом, характерные для почв травянистых растительных сообществ водоросли родов *Aphanocapsa*, *Leptolyngbya*, *Microcoleus*, *Nostoc*, *Timaviella*, *Trichocoleus* из числа цианопрокариот, *Hantzschia* и *Pinnularia* – из диатомовых, из желтозеленых – представители *Botrydiopsis*, *Vischeria*, *Xanthonema*, зеленых – *Actinochloris*, *Bracteacoccus*, *Chlamydocapsa*, *Chlamydomonas*, *Chlorosarcinopsis*, *Coelastrella*, *Coccomyxa*, *Neocystis*, *Oedogonium*, *Parietochloris*, *Spongiochloris*, *Stichococcus*, *Tetracystis* и *Klebsormidium*. Стоит отметить, что находки *Actinochloris sphaerica* Korshikov, *Oedogonium* sp., известные для Байкальского региона, частью которого является Иркутская область, ограничены в настоящее время травянистыми фитоценозами. Разнообразие видов на отдельных учетных площадках составило для ПП 1 (вершина насыпи) – 19, ПП 2 – 23, ПП 3 – 18. Отмечено значительное сходство видового состава комплекса выявленных видов на участках разной степени нарушенности. Доминантами выступают цианопрокариоты, обильно развивавшиеся в культуре и массово разрастающиеся на почве.

*Nostoc commune* длительное время существует здесь в составе водорослевых группировок. Нами вид регистрировался в течение десяти лет. Однако, вполне возможно он функционирует в таких условиях значительно дольше. Мы проанализировали данные почвенно-альгологического изыскания, ранее проводившихся на близлежащих территориях со сходными экологическими условиями [5, 1, 6]. Макроколонии *Nostoc commune* отмечала Т.А. Сафонова [6] на побережье оз Байкал в Приольхонье, в 70-ти км на северо-восток от территории наших исследований. Микроколонии вида также в степях

Приольхонья регистрировали В.М. Андреева и Н.В. Сдобникова [1]. Е.А. Судакова [5] проводила многолетние изыскания южнее территории наших работ, но *Nostoc commune* не находила. Нами в результате многолетних экспедиционных исследований установлено, этот вид нередко встречается в разных типах растительных сообществ, но и не является повсеместно распространенным. Наиболее массовые разрастания формируются на антропогенно-нарушенных почвах. В ненарушенных фитоценозах обилие ностока было значительно меньшим.

Определение одномоментной биомассы *Nostoc commune* в окрестностях с. Баяндай выявило, что она варьирует в широких пределах: от 2 до 72 г сухой массы/ м<sup>2</sup>. Максимальные значения биомассы отмечены для вершины придорожной насыпи, ПП 1. Анализ средних показателей формируемой ностоком биомассы на каждой ПП выявил ее уменьшение при переходе от антропогенно-нарушенных к ненарушенным почвам. Средние значения биомассы на участках с антропогенно-нарушенным почвенным покровом составили 18 и 15 г сухой массы/ м<sup>2</sup>, на ненарушенной дерново-карбонатной почве вблизи насыпей – 11 г/м<sup>2</sup>. В естественных фитоценозах ряда других близлежащих территорий биомасса *Nostoc commune* в наших измерениях не превышала 5 г/м<sup>2</sup> [4].

#### Литература

1. Андреева В.М., Сдобникова Н.В. О почвенных водорослях степных районов Прибайкалья // Новости сист. низш. раст. – 1975. – Т. 12. – С. 81-88.
2. Егорова И.Н. Видовой состав водорослей в ассоциациях с *Rhytidium rugosum* (Bryophyta) в Сохондинском заповеднике (Забайкальский край) // Ботан. журн. – 2012. – Т. 97. № 8. – С. 1051a-1061.
3. Егорова И.Н., Судакова Е.А., Максимова Е.Н., Тупикова Г.С. Наземные водоросли гор Южной Сибири и Северной Монголии // Ботан. журн. – 2020. – Т. 105. № 2. – С. 107-132.
4. Егорова И.Н., Шамбуева Г.С., Шергина О.В., Шинен Н. К экологии *Nostoc commune* (Cyanoprocarota) из Южной Сибири и Монголии // Сибирский лесной журн. – 2019. – № 1. – С. 16-29.
5. Судакова Е.А. Почвенные водоросли основных фитоценозов и пахотных угодий южной части Предбайкалья: Дисс. на соиск. уч. степени канд. биол. наук. – Л.: БИН АН СССР, 1977. – 145 с.
6. Сафонова Т.А. Синезеленые водоросли (Cyanoprocarota) на каменистых субстратах Прибайкалья // Turczaninowia. – 2002. – Т. 5. Вып. 1. – С. 68-75.
7. Штина Э.А. Методы изучения почвенных водорослей. – Киров: Кировский сел.-хоз. ин-т, 1981. – 35 с.
8. Экологический атлас Байкальского региона. Иркутск: Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН; Институт динамики систем управления и теории управления им. В.М. Матросова СО РАН, 2017. [Электронный ресурс геопортала]. – Режим доступа: <http://atlas.isc.irk.ru>, свободный (дата обращения: 25.08.2020).

**ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* И ИХ АНТАГОНИСТОВ  
НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ  
В ЛИСТЬЯХ МЕЛИССЫ**

**Фокина А.И.<sup>1</sup>, Загоскин М.А.<sup>1</sup>, Огородникова С.Ю.<sup>1,2</sup>,  
Благодатских Я. Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Вятский государственный университет,  
annushka-fokina@mail.com*

<sup>2</sup>*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
svetaok2014@yandex.ru*

Аннотация. Одним из выращиваемых садоводами растений является мелисса лекарственная. Выращивая, люди часто не задумываются о возможном влиянии почвенных микроорганизмов на качество продукции. В модельном эксперименте при выращивании мелиссы лекарственный сорта «Лимонный аромат» на питательном грунте в течение двух месяцев с добавлением в грунт микромицета *Fusarium culmorum* в присутствии его антагонистов *Trichoderma* sp. и *Fischerella muscicola* было установлено, что достоверно снижается интенсивность перекисного окисления липидов в листьях растений по сравнению с контролем во всех вариантах с добавлением микроорганизмов.

Ключевые слова: мелисса лекарственная, микромицеты рода *Fusarium*, антагонисты, перекисное окисление липидов.

Выращивание лекарственных растений – одно из популярных направлений деятельности в сельском хозяйстве. Так одним из таких растений является мелисса лекарственная. Ее выращивают не только в крупных масштабах, но и частным образом садоводы–любители. При этом, часто не задумываясь о возможном влиянии на качество продукции почвенных микроорганизмов. Одним из фитопатогенных микроорганизмов являются микромицеты рода *Fusarium*. Их антагонистами являются некоторые виды цианобактерий и микромицеты р. *Trichoderma*. Выяснение механизмов формирования устойчивости растений к грибным болезням (патогенным микроорганизмам) неизменно приводит к необходимости анализа биохимических факторов устойчивости [1]. Чтобы понять, как лучше всего бороться с болезнями растений для повышения продовольственной безопасности, специалисты по защите растений должны проводить исследования, определяя ключевые биохимические процессы и факторы, влияющие на их изменения [2]. Одним из чувствительных биохимических показателей у растений на действие различных факторов является интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ). Однако данных о влиянии микромицетов изучаемого рода в присутствии антагонистов и без них практически нет в литературе.

**Целью** работы было установить влияние *Fusarium culmorum* в присутствии его антагонистов *Trichoderma* sp. и *Fischerella muscicola* на интенсивность ПОЛ в листьях Melissa.

**Объекты и методы исследования.** Семена Melissa лекарственной сорта «Лимонный аромат» промывали 1%-м раствором перманганата калия и проращивали в стерильных условиях в чашках Петри на увлажненной дистиллированной водой фильтровальной бумаге в течение недели. Далее растения пересаживали в питательный грунт, имеющий следующие агрохимические характеристики: pH = 5,5-6,5; N – 50-150 мг/100 г; P(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) – 100-250 мг/100 г; K(K<sub>2</sub>O) – 150-300 мг/100 г (г. Тверь, Россия). В грунт перед посадкой растений были добавлены: суспензия *Fusarium culmorum* (T = (5,00±0,05)·10<sup>9</sup> кл/мл, 1 мл на 60 г грунта), а также суспензия микромицета в присутствии цианобактерии (ЦБ) *Fischerella muscicola* (T = (3,00±0,05)·10<sup>9</sup> кл/мл, 5 мл на 60 г грунта), гриба *Trichoderma* sp. (T = (5,0±0,1)·10<sup>9</sup> кл/мл, 5 мл на 60 г грунта) и смеси *F. muscicola* с *Trichoderma* sp. в аналогичных количествах. В качестве контроля использовали Melissa, выращенную на грунте без добавления микроорганизмов.

**Результаты и обсуждение.** Через два месяца в листьях Melissa была определена интенсивность ПОЛ по содержанию в них малонового диальдегида методом спектрофотометрии. Установлено, что достоверно снижается, по сравнению с контролем, интенсивность ПОЛ в листьях растений, выращенных с внесением в грунт микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1

Содержание МДА в листьях Melissa, нмоль/г сырой массы

Вариант	МДА, нмоль/г
Контроль	29,5±1,7
<i>F. culmorum</i>	13,7±1,5
<i>F. culmorum</i> + <i>F. muscicole</i>	18,3±0,5
<i>F. culmorum</i> + <i>Trichoderma</i> sp.	19,8±1,0
<i>F. culmorum</i> + <i>F. muscicole</i> + <i>Trichoderma</i> sp.	15,9±0,5

Интенсивность ПОЛ у опытных растений ниже, чем в контрольном варианте. Это их функциональное состояние, как результат адаптационных перестроек растений к условиям произрастания. Усиление ПОЛ обычно трактуется, как негативное влияние каких-либо факторов. Вероятно, что и в нашем случае произошло воздействие на растения со стороны микромицета, вызвавшее существенный отклик окислительно-восстановительных процессов, что могло повлечь выработку антиоксидантов, снижающих данное воздействие. Этот факт нам предстоит проверить в дальнейших исследованиях, чтобы сделать заключение о причинах такого явного превышения значения содержания МДА в контрольном варианте по сравнению с его опытными аналогами.

## Литература

1. Лоскутов И.Г., Шеленга Т.В., Конарев А.В., Хорева В.И., Шаварда А.Л., Блинова Е.В., Гнутиков А.А. Биохимические аспекты взаимодействия грибов и растений на примере фузариоза овса//Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54. № 3. – С. 575-588.
2. Chakraborty S., Newton A.C. Climate change, plant diseases and food security: an overview//*Plant Pathology*. – 2011. – 60(1). – P. 1-14.

УДК 663.1: 582.261/.279: 546.562

### СИНТЕЗ СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SPIRULINA PLATENSIS* В ПРИСУТСТВИИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ CU (II)

Цуркан О.П.

*Институт микробиологии и биотехнологии АНМ,  
turcanolga2019@mail.ru*

Аннотация. Было проведено исследование синтеза сульфатированных экзополисахаридов у *Spirulina platensis*, в присутствии координационных соединений Cu (II). Таким образом, координационные соединения Cu (II) вводимые в концентрациях до 0,015 ммоль/л, благотворно влияет на синтез сульфатированных экзополисахаридов в культуральной жидкости, и могут быть использованы в качестве регуляторов в биотехнологии культивирования спирулины.

Ключевые слова: *Spirulina platensis*, сульфатированные экзополисахариды, двухвалентная медь.

#### Введение

Цианобактерии, самые древние формы жизни на Земле, являются фотоавтотрофными прокариотами, которые включают большое количество видов, исключительно разнообразных, высокоспециализированных и адаптированных к различным экологическим средам обитания (наземным, ледниковым, воздушным, морским и т. д.). Будучи основной частью фитопланктона, цианобактерии необходимы для глобальной пищевой цепи и имеют незаменимое значение для поддержки экосистем земли. [11, 12,]

Все большее внимание уделяется коммерческому росту цианобактерий и водорослей, поскольку они являются многообещающими источниками биоактивных соединений, которые включают антиоксиданты, полиненасыщенные жирные кислоты, пептиды, полисахариды, пигменты, такие как каротиноиды, хлорофиллы и фикобилины и др. с важными свойствами, такими как антикоагулянтным и / или антитромботические свойства, иммуномодулирующая способность, а также противораковое, антибиотическое, противовоспалительное и антиоксидантное действие, с широким спектром применения в медицине [2, 12].

Относительно новая область возможной эксплуатации цианобактерий появилась в последнее десятилетие в связи с ростом промышленного интереса к полисахаридам микробного происхождения. Среди цианобактерий, исследованных в качестве источника полисахаридов, можно упомянуть *Nostoc* sp., *Anabaena* sp., *Phormidium* sp., *Cyanospira capsulata*, *Chronococcus minutus*, *Oscillatoria* sp. и т. д., которые производят повышенное количество различных биологически активных веществ [5, 14,]. Цианофиты считаются предпочтительными производителями полисахаридов, поскольку они используют дешевые и возобновляемые субстраты [1, 8].

Цианобактерии могут продуцировать экзополисахариды и высвободить их в окружающую среду, что является одним из адаптивных механизмов развития цианобактерий, способных справляться со сложной и изменчивой средой. Экзополисахариды играют защитные функции и важны для их выживания в стрессовых средах обитания, подвергающихся воздействию радиации, высыхания и высоких температур. Они представляют собой сложные анионные гетерополимеры, более 75% которых состоят из шести или более моносахаридов. Глюкоза является наиболее распространенным типом моносахаридов. Большинство экзополисахаридов имеют анионную характеристику из-за заряженных групп, таких как уроновая кислота и сульфатные группы. Сульфатные группы придают противовирусные свойства полисахаридам, в то время как гидрофобные группы, такие как сложные эфиры, связанные с ацетильными группами, пептидами и дезоксисахарами, способствуют эмульгирующим свойствам [7, 11, 13].

Поэтому экзополисахариды, продуцируемые цианобактериями, имеют широкую перспективу применения во многих отраслях, таких как пищевые добавки, косметология, фармакология и очистка сточных вод. Цианобактериальные полисахариды могут оказывать значительное влияние на модуляцию иммунной системы [3, 10, 14].

Однако известно небольшое количество исследований синтеза экзополисахаридов при культивировании цианобактерии *Spirulina platensis*.

Таким образом, целью нашего исследования является изучение направленного синтеза сульфатированных полисахаридов в *Spirulina platensis* при культивировании в присутствии координативных соединений Cu (II): PK2- $C_{15}H_{18}ClCuNO_4$ ; PK5- $C_{11}H_{12}Br_2ClCuNO_3$ ; PK10- $C_{13}H_{20}CuN_2O_9$ ; PK12- $C_{11}H_{13}ClCuN_2O_9$

Методами исследования служили:

**Метод определения продуктивности**, который был выполнен с помощью фотоколориметра с пересчетом клеточной массы при абсолютно сухой биомассе (БАУ) по [15].

**Определение сульфатированных полисахаридов** в культуральной жидкости проводилось, методом окрашивания алциановым синим [3]. После их осаждения при помощи ацетона, при связывании карбоксильных анионных групп и сульфатированных эфирных групп кислых полисахаридов водорослей с красителем алциановый синий и образованием нерастворимого осадка,

измеряли разницу между поглощением при 600 нм исходного красителя и оставшегося в супернатанте, после связывания с полисахаридами.

В ходе проведенных исследований было протестировано действие 4 координационных соединений Cu (II) на синтез сульфатированных экзополисахаридов в культуральной среде *Spirulina platensis*. Наиболее важным показателем для определения токсичности химических регуляторов, а также параметров культивирования является продуктивность. Анализ полученных результатов показывает, что с увеличением концентрации координационных соединений в культуральной среде происходит снижение продуктивности спирулины (рис. 1).

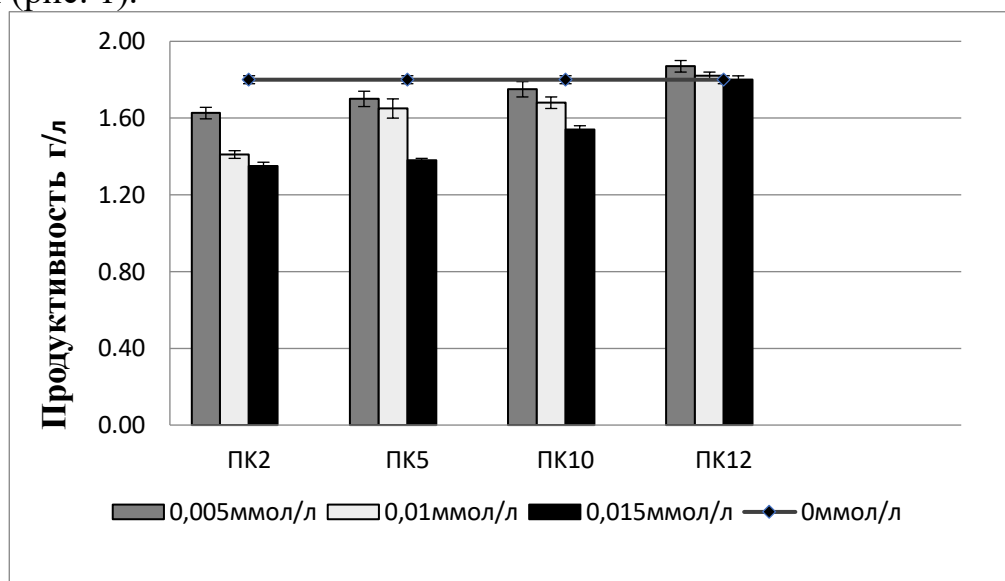


Рисунок 1 – Продуктивность (г/л) цианобактерии *Spirulina platensis* CNM CB-02 при культивировании в присутствии координационных соединений Cu (II)

Было замечено токсическое действие тестируемых координационных соединений на продуктивность спирулины, поскольку даже при введенных минимальных концентрациях (0,005 ммоль/л) наблюдался отрицательный эффект, за исключением соединения ПК-12 (во всех концентрациях), которое влияло при режиме освещения 3600 лк, что привело к незначительному увеличению продуктивности до 6%.

Таким образом, в результате исследований обнаружено, что все протестированные соединения Cu (II) оказывают ингибирующее влияние на продуктивность спирулины, которая увеличивается с повышением концентрации.

Представляло интерес изучение влияния факторов, представленных выше, на синтез сульфатированных экзополисахаридов, продуцируемых цианобактерией *Spirulina platensis* и выделяемых в культуральную жидкость.

После проведенных исследований, содержание полисахаридов в культуральной жидкости цианобактерии *Spirulina platensis*, было обнаружено, что при увеличении концентрации координационных соединений Cu (II), добавляемых в среду для культивирования, наблюдается значительное увеличение содержания сульфатированных экзополисахаридов (рис. 2).

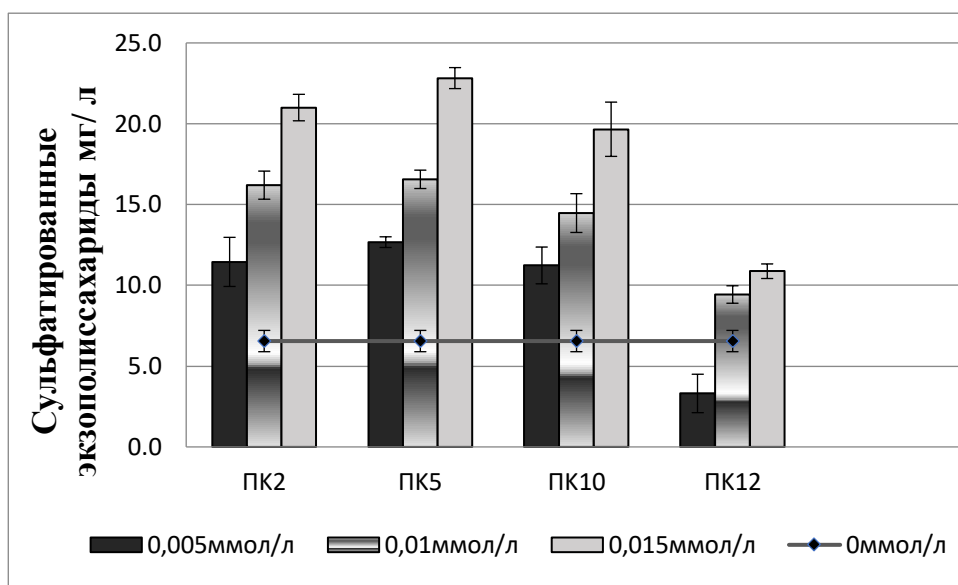


Рисунок 2 – Содержание сульфатированных экзополисахаридов (мг/л) при культивировании спирулины в присутствии координационных

Таким образом, максимальное содержание сульфатированных экзополисахаридов (22,82 мг / л) (рис. 2) было зафиксировано в случае введения ПК-5 при максимальной вводимой концентрации 0,015 ммол/л, что составляло увеличение в 3,48 раза больше по сравнению с контрольным образцом (6,55 мг/л).

Также было отмечено высокое содержание сульфатированных экзополисахаридов при использовании координационных соединений ПК-2, ПК-10 и ПК-12 при культивировании спирулины в концентрациях 0,015 мг/л, причем увеличение наблюдается для сульфатированных на 220,51%, 200,06% и 65,93% соответственно, по сравнению с контролем.

Данные литературных источников показывают, что выработка избытка экзополисахаридов цианобактериями и водорослями является ответом на стресс, вызванный присутствием ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , что способствовало развитию способности микроводорослей создавать стратегии, обеспечивающие их выживание. Эти полимеры благодаря своей анионной природе обладают отличной способностью к сильному взаимодействию с катионами и играют важную роль в захвате или удержании ионов металлов, которые необходимы или опасны для цианобактерий и водорослей. [4, 6, 7]. Таким образом, после реализации данного исследования можно отметить что применяемые координационные соединения  $\text{Cu}$  (II) стимулируют синтез сульфатных экзополисахаридов, которые увеличиваются с повышением концентрации, добавляемой в культуральную среду; и могут использоваться в качестве регуляторов в биотехнологии культивирования спирулины.

#### Литература

1. Bertocchi C., Navarini L., Cesaéro A., Anastasio M. Polysaccharides from cyanobacteria//Carbohydr. Polym. – 1990. – № 12. – P. 127-153.



2. Biswajit R. Bioactive Compounds from microalgae and cyanobacteria utility and applications//Priyadarshani and Rath, IJPSR. – 2012. – Vol. – 3(11): – P. 4123-4130.
3. Bulimaga V., Pisova M., Zosim L. Sinteza orientată a polizaharidelor acide la cianobacteria *Spirulina platensis* CNM-CB-02. // Studia Universitatis Moldaviae, Seria “Științe reale și ale naturii”. – 2017. – № 1 (101). – ISSN 1814-3237. – P. 46-50.
4. Cunha L., Grenha A., Laurienzo P. Sulfated Seaweed Polysaccharides as Multifunctional Materials in Drug Delivery Applications//Mar Drugs. – 2016 14(3). – P. 42.
5. De Almeida C. L. F., Falcão H. D. S., Lima G. R. D. M., et al. Bioactivities from marine algae of the genus *Gracilaria*//International Journal of Molecular Sciences. – 2011. – 12(7). – P. 4550-4573.
6. Delattre C., Pierre G., Laroche C., Michaud P. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides//In: Biotechnol. Adv. – 2016. – P. 1-21.
7. Dhanesh K., Petr K., Siba P. Adhikary Exopolysaccharides from cyanobacteria and microalgae and their commercial application//Article in Current science, July – 2018. – DOI: 10.18520/cs/v115/i2/ – P. 234-241.
8. De Philippis R., Vincenzini M. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications//FEMS Microbiol. Rev. – 1998. – № 22. – P. 151-175.
9. De Philippis R., Claudio S., Paperi R., Vincenzini M. Exopolysaccharide-producing cyanobacteria and their possible exploitation: A review//Journal of Applied Phycology. – 2001. – Vol. 13. – P. 293-299.
10. Hayashi K., Hayashi T., Kojima A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: in vitro and ex vivo evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. AIDS//Res Hum Retroviruses. – 1996. – Oct 10; 12(15). – P. 1463-71.
11. Jay S.S., Arun K., Amar N.R., Devendra P.S. Cyanobacteria: A Precious Bioresource in Agriculture, Ecosystem, and Environmental Sustainability. – 2016; 7. – P. 529.
12. Jha R.K., Zirong X. Biomedical compounds from marine organisms//*Marine Drugs*. – 2004.2(3). – P. 123-146.
13. Kaji T., Okabe M., Shimada S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Lee J.B., Hayashi T. Sodium spirulan as a potent inhibitor of arterial smooth muscle cell proliferation in vitro.//Life Sci. – 2004. – Mar 26; 74(19). – P. 2431-9.
14. McClure M., Moore J., Blanco D., Scotting P et al. Investigations into the mechanisms by which sulfated polysaccharides inhibit HIV infection *in vitro* //AIDS Res. Uman teroviruses. – 1992. – Vol. 8. – P. 19-26.
15. Rudic V., Dencicov L. Optimizarea mediului nutritiv pentru cultivarea spirulinei//Anale științifice ale Universității „Al. I. Cuza” din Iași, Seria Biologie. – 1991. – Vol. 37. – P. 91-94.

## РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ЗАЩИТНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

**Черемисинов М.В., Нанкина Н.В.**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
cheremisinov.mv@yandex.ru*

Аннотация. Разработана система защитных мероприятий зерновых культур против вредителей, болезней и сорняков в ЗАО «Заречье» Куменского района. Даны рекомендации по внедрению нового сорта ячменя.

Ключевые слова: система защитных мероприятий, фунгициды, протравители.

На Российском рынке все больше реализуется зарубежной продукции растениеводства, в большинстве случаев именно по данной практике выявляются новые заболевания зерновых культур не типичных для данных климатических условий, снижается урожайность и качество зерна. Поэтому в большинстве случаев зарубежные аналоги продукции вытесняют отечественное производство зерновых культур не уступающим им по многим характеристикам. Для того чтобы обеспечить внутренний Российский рынок качественной продукцией общедоступной для населения, а так же свести к минимуму потребление продуктов из за других стран, повысить среднелюдское потребление можно только путем восстановления и развития отечественного сельского хозяйства, основной частью которой является производство зерновых культур.

Рассмотрим применение системы защитных мероприятий на зерновых культурах в ЗАО «Заречье» Куменского района. Хозяйство специализируется на производстве мяса, разведении крупного рогатого скота и производстве молока. Есть цех по изготовлению колбасы, полуфабрикатов и мясных изделий, а также ферма по выращиванию свиней. Хозяйство также занимается возделыванием зерновых культур, урожайность которых в среднем составляет 19,0 ц/га.

Цель – совершенствование системы защиты зерновых культур в ЗАО «Заречье» Куменского района Кировской области. Хозяйство ежегодно производит семенной материал ячменя, пшеницы, овса I и II репродукций. Семена элиты ежегодно закупаются. Хозяйство планирует закупить семена элиты ячменя сорта Изумруд. Система мероприятий должна предусматривать борьбу не с одним каким-либо вредным организмом, а с комплексом вредителей, болезней, сорняков. В настоящее время все больше наряду с химическими препаратами применяют и микробиологические препараты, регуляторы роста, а также энтомофаги [1-6]. При этом следует учитывать особенности развития организмов, природно-климатические условия, направление хозяйства. Представляем разработанную комплексную технологию защиты зерновых культур от болезней, вредителей и сорняков (табл. 1, 2).

Таблица 1

Комплексная технология защиты посевов зерновых культур от болезней, вредителей и сорняков.

Наименование операции	Цель	Оптимальные сроки	Название препарата	Норма расхода
1	2	3	4	5
Озимые и яровые зерновые культуры				
протравливание	борьба с комплексом семенной инфекции (виды головни, пятнистости, корневые гнили), предотвращение поражения семян и проростков возбудителями болезней, находящимися в почве	За 2 недели до посева	винцит, КС виал ТТ ламадор, КС	1,5 л/т 0,4-0,5 л/т 0,15-0,2 л/т
обработка посевов гербицидами	борьба с однолетними и многолетними двудольными сорняками	кущение культуры	магнум, ВДГ балерина, СЭ	0,08-0,09 кг/га 0,3-0,5 л/га
	борьба с однолетними злаковыми сорняками	опрыскивание посевов по вегетирующим сорнякам, начиная с фазы 2 листьев до конца кущения (независимо от фазы развития культуры)	гербитокс, ВРК агритокс, ВК тризлак, ВДГ	1-1,5 л/га 0,15-0,2 л/га 0,02 л/га
обработка посевов фунгицидами	борьба с комплексом болезней (виды ржавчины, мучнистая роса, септориоз)	против комплекса листо-стебельных заболеваний в течение вегетации, предпочтительна профилактическая обработка (в фазу конец кущения-начало трубкования и/или фазу флаг, листа - начало колошения). Для борьбы с фузариозом колоса фаза - конец колошения - начало цветения.	амистар экстра СК	1,5л/га

## Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
обработка посевов инсектицидами	борьба с вредителями (шведская муха, зеленоглазка)	при численности фитофагов, превышающей ЭПВ	децис – эксперт КЭ би – 58 новый, КЭ	0,005-0,2 л/га 1-1,5 л. л/га

Для защиты посевов мы предлагаем использовать препараты – винцит , ламадор и гербитокс, магнум - препараты системного действия, обладающие высокой биологической эффективностью. Таким образом, система защитных мероприятий по защите зерновых культур от вредителей, болезней и сорняков обладает высокой биологической эффективностью. При проведении календарного плана специальных защитных мероприятий яровых зерновых культур, наиболее высокие потребности препаратов на объем работы необходимы против мучнистой росы и твердой головни, наименьшая потребность против сорной растительности (табл. 3).

Таблица 2

## Система защитных агротехнических мероприятий по защите зерновых культур и картофеля

Сроки выполнения работ	Мероприятия	Назначение мероприятий
1	2	3
Ежегодно	Соблюдение севооборота; выращивание на одном месте не более 2-3 лет; возделывание после отличных и лучших предшественников; возделывание устойчивых сортов	Борьба с вредителями, болезнями и сорняками
Осенние мероприятия		
После уборки предшественника осенью	Лущение стерни	Подрезание сорняков, измельчение корневой системы однолетних сорняков, провокация семян к прорастанию
После появления всходов сорняков	Обработка гербицидами сплошного действия (при сильной засоренности и неэффективности других методов)	Уничтожение сорняков
Перед основной обработкой почвы	Внесение минеральных и органических удобрений в требуемых дозах	Обеспечение планируемого урожая, повышение почвенного плодородия

1	2	3
Через 2 недели после лущения	Зяблевая вспашка	Заделка удобрений, накопление влаги в почве, уничтожение проростков сорных растений
Подготовка семенного материала		
Перед посевом	Сортировка семенного материала	Уборка непригодного семенного материала
За 3-4 недели до посева	Обработка биопрепаратами: псевдобактерин, флавобактерин	С целью повышения устойчивости к болезням и повышению урожая.
Непосредственно перед посадкой	Обработка микроэлементами «Микон» (марганец, бор, цинк, молибден и другие)	Обеспечение запланированной урожайности, повышение устойчивости растений к болезням
Весенние мероприятия		
При спелости почвы	Боронование	Закрытие накопленной в почве влаги, провокация сорняков
Через 7-10 дней	Культивация	Рыхление почвы, уничтожение проросших сорняков
Перед посевом	Внесение фосфорных удобрений (диаммофоска)	Обеспечение всходов и растений фосфором, повышение устойчивости к болезням и холодостойкости всходов
Уход за растениями		
Через 6-8 дней после посева	Боронование	Рыхление почвы, уничтожение сорняков
За 5 дней до всходов	Обработка гербицидами (при необходимости)	Уничтожение сорняков
В период вегетации	Обработка фунгицидами	Уничтожение грибных болезней
При массовом появлении вредителей	Обработка инсектицидами	Сокращение численности взрослых вредителей и уничтожение личинок
Хранение зерна		
За месяц до закладки зерновых	Очистка и дезинфекция хранилища, раскладка приманок	Борьба с болезнями, возникающими в процессе хранения.
Перед закладкой	Очистка, сушка, сортировка зерна, на шахтных или польских сушилках.	Борьба с болезнями и вредителями, зимующими
Ежегодно	Соблюдение правил хранения.	Борьба с болезнями и гнилями.

Таблица 3

## Календарный план специальных защитных мероприятий яровых зерновых

Способ обработки объём работ, га, т	Календарные сроки обработки, фаза развития культуры	Название болезней, вредителей.	Название пестицида, препаративная форма	Расход рабочей жидкости, л/га, л/т	Норма расхода препарата (кг, л на 1 т, га, м <sup>2</sup> )
протравливание	за 7-12 дней до посева	корневые гнили, пятнистости, виды головни, плесневение семян	ламадор, КС	10	0, 2
обработка фунгицидами	в период вегетации в фазы конец кущения	мучнистая роса, бурая ржавчина (при слабом развитии болезней)	амистар- экстра	300	1
обработка инсектицидами	в период вегетации.	злаковые мухи хлебные блошки хлебный жук – кузька	децис эксперт, КЭ	300	0,1
обработка гербицидами	по вегетирующим сорнякам, начиная с фазы 2 листьев до конца кущения	сорные растение	магнум, ВДГ	300	0,01
подготовка складов дератизация	предуборочный период, за 10 дней до загрузки семян	грызуны	ратиндан	-	1,3

Таким образом, разработаны агротехнические, химические мероприятия по защите зерновых культур от вредителей, болезней и сорняков.

Предложен для возделывания наиболее урожайный сорт ячменя Изумруд.

Спроектирована новая система защиты зерновых культур, что обеспечит увеличение урожайности, а, следовательно, и производство зерна.

При соблюдении данных рекомендаций улучшится структура посевных площадей, состояние почв, система защитных мероприятий возделывания яровых зерновых культур от вредителей и болезней в ЗАО «Заречье» Куменского района Кировской области.

## Литература

1. Черемисинов М.В. Микробиологические препараты и регуляторы роста против возбудителей корневых гнилей на ячмене//Адаптивные технологии в растениеводстве – итоги и перспективы: Материалы Всероссийской научно-

практической конференции, посвященной 60-летию кафедры растениеводства Ижевской ГСХА. Ижевск, – 2003. – С. 152-155.

2. Черемисинов М.В., Помелов А.В. Росторегулирующее действие препаратов на ячмене сорта Биос-1. Науке нового века - знания молодых: Тезисы докладов 2-ой научной конференции аспирантов и соискателей. – 2002. – С. 36-38.

3. Черемисинов М.В., Нагонюк Н.Г. Применение амблисейуса в защищенном грунте на культуре огурца//Инновационные процессы и технологии в современном сельском хозяйстве: Матер. международ. научно-практич. конф.: в 2-х частях. – 2014. – С. 149-158.

4. Черемисинов М.В., Нагонюк Н.Г. Использование энтомофагов в защищенном грунте//Актуальные вопросы аграрной науки: теория и практика. Матер. Всеросс. научно-практич. конф. – Киров: Вятская ГСХА, 2014. – С. 214-216.

5. Черемисинов М.В., Тагакова Л.А. Мутационное и защитное влияние протравителей семян на растения ячменя сорта Нур в третьем поколении//Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем: Матер. XIII Всероссийской научно-практической конф. с международным участием. – 2015. – С. 113-116.

6. Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Применение биопрепаратов при выращивании бобовых растений как элемент рационального использования сельскохозяйственных угодий//Аграрная наука – сельскому хозяйству: сборник материалов: в 2 кн. /XIV Международная научно-практическая конф. – Барнаул: РИО Алтайского ГАУ, 2019. – Кн. 1. – С. 192-194.

**УДК 620.95:504.7**

## **ТРАНСФОРМАЦИЯ БИОМАССЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В БИОДИЗЕЛЬ; ОЦЕНКА ЭНЕРГОЗАТРАТНОСТИ ПРОЦЕССА**

**Чернова Н.И.**

*МГУ имени М.В.Ломоносова, НИЛ ВИЭ,  
chernova\_nadegda@mail.ru*

Аннотация. Биомасса микроводорослей (МКВ) рассматривается как альтернативное сырье для производства биотоплива. В данной работе представлены результаты исследования трансформации биомассы МКВ из коллекции НИЛ возобновляемых источников энергии МГУ имени М.В. Ломоносова. Рассматриваются полученные результаты оценки энергозатратности процесса получения биодизеля из микроводорослей в лабораторном эксперименте.

Ключевые слова: микроводоросли/цианобактерии, биодизель, переэтерификация, энергозатратность.

Одной из наиболее острых экологических проблем, находящихся в центре внимания всего мирового сообщества в настоящее время, является

продолжающийся рост концентрации парниковых газов в атмосфере. Решением данной проблемы, как показал анализ публикаций в международных изданиях, является замещение традиционных углеводородных топлив на «СО<sub>2</sub>-нейтральные» биотоплива, пусть и частичное. При этом в качестве одного из перспективных источников возобновляемого сырья для производства такого биотоплива рассматриваются микроводоросли. МКВ за счет большей удельной поверхности существенно более эффективно преобразуют энергию солнечного света, углекислый газ и воду в биомассу и кислород (в процессе фотосинтеза), чем обычные растения [1]. Поэтому их промышленное культивирование может способствовать заметному снижению парниковых газов в атмосфере.

*Методы исследования.* В выполненных нами исследованиях были апробированы методы трансформации биомассы выделенных нами различных видов МКВ в целевые энергетические продукты: биоэтанол, биобутанол, биодизель, биоводород, биометан, бионефть. С этой целью были проведены экспедиции для взятия образцов и дальнейшего выделения из них липидосодержащих водорослей (Камчатка, Байкал, Карелия, Валдай, Московская область). Полученные накопительные культуры в дальнейшем были проанализированы по методике пре-скрининга на основе окрашивания клеток судановыми красителями для отбора липидосодержащих МКВ [2]. Были проведены селекционные и физиолого-биохимические исследования отобранных штаммов МКВ с целью увеличения выхода целевых продуктов. Была теоретически обоснована и экспериментально подтверждена двухстадийная схема выращивания МКВ, которая обеспечивала на первой стадии их максимальную продуктивность по биомассе, а на второй – биосинтез и аккумуляцию липидов в клетках водорослей под влиянием специально подобранных для каждой культуры условий физиологического стресса. Изучалось воздействие повышенной и пониженной инсоляции, субоптимальных температур, лимитирования азота и фосфора в питательных средах на продуктивность и содержание липидов в клетках МКВ. Для экспресс-отбора кандидатных штаммов был использован метод скрининга МКВ и цианобактерий на основе окрашивания липидов в клетках флуоресцентным красителем Нильским красным, специфичным на нейтральные липиды, с последующей регистрацией флуоресценции на различных люминесцентных микроскопах (Leica DM 2500, Микмед-2, вар.11 (ЛОМО)). В результате была выделена серия кандидатных штаммов МКВ – продуцентов липидов для дальнейшего производства биодизеля.

Цель данной работы – лабораторные исследования трансформации биомассы МКВ из коллекции НИЛ ВИЭ в биодизель с оценкой энергозатратности этого процесса.

*Апробация методов трансформации биомассы МКВ в биодизель.* Кислотный состав МКВ близок к растительным маслам традиционных масличных культур и определяется штаммами МКВ и условиями их выращивания. Так, например, в состав водорослей *Desmodesmus* sp. из беломорского гидроида входят в основном мононенасыщенные олеиновая



(C18:1), 50-60%), пальмитолеиновая (C16:1, 0-15%) и насыщенная пальмитиновая (C16:0, 25-30%) кислоты; полиненасыщенные линолевая (C18:2) и линоленовая (C18:3) кислоты входят в незначительных (менее 10%) количествах [3]. Существующие способы получения биодизеля из МКВ предполагают предварительное выделение липидной фракции из биомассы различными видами экстракции или сухим отжимом. Наиболее распространенным является метод Фольша [4]. Этот метод позволяет получить самый высокий выход нейтральных липидов. Другой метод предложен Блайем и Дайером, когда экстракцию липидов осуществляют смесью хлороформ-метанол (1:1) из расчета две части смеси на одну часть биомассы [5]. В этом случае при промывке водой наиболее полярные кислые фосфолипиды и лизофосфолипиды переходят в водную фазу и не мешают реакции переэтерификации. Далее осуществляется гидролиз триацилглицеринов (ТАГ) и переэтерификация свободных жирных кислот в кислых и щелочных условиях с помощью метилового или этилового спирта. Проведение процесса в щелочных условиях, как и увеличение температуры, позволяют достичь более высоких выходов конечного продукта. Гуань-Хуа Хуанга с соавт. [6] в 2009 г. был предложен быстрый метод скрининга для получения липидов из водорослей, основанный на флуоресценции Нильского красного. По сравнению с традиционным методом гравиметрии, который занимает не менее пяти дней, метод, основанный на флуоресценции Нильского красного, занимает всего два дня. Во-вторых, метод измерения флуоресценции является чувствительным к количеству липидов и может различаться всего на 0,1% по содержанию липидов. В-третьих, для гравитационного определения требуется в 50 раз больше сухой биомассы водорослей, чем в методе окрашивания липидов Нильским красным. Поэтому, измерение флуоресценции является хорошим альтернативным методом для определения содержания липидов в клетках.

*Выбор способа предобработки биомассы МКВ.* Было исследовано влияние различных способов предобработки биомассы на эффективность экстракции суммарных липидов. Эти исследования проведены с использованием биомассы цианобактерии/сине-зеленой водоросли *A. platensis rsemsu P (Bios)*, выращиваемой в НИЛ ВИЭ полунепрерывным открытым способом в течение длительного времени. Экстракцию липидов проводили из 1) необработанной сухой биомассы; 2) пастообразной биомассы с влажностью 85%. Методами предобработки являлись: 1) УЗ дезинтеграция (22 кГц, 10 мин); 2) воздействие микроволнового излучения (700 Вт, 10 мин); 3) автоклавирование (0,5 атм, 110<sup>0</sup>С, 10 мин); 4) кипячение на водяной бане (100<sup>0</sup>С, 5 мин). Установлено, что наиболее эффективным подходом является экстракция липидов из пастообразной биомассы с влажностью 85%, предварительно выдержанной на водяной бане при 100<sup>0</sup>С в течение 5 мин.

*Экстракция липидов из биомассы МКВ, выращенной в условиях физиологического стресса, и трансформация ее в биодизельное топливо.* Экстракция липидов из предобработанной биомассы МКВ проводилась нами по методу Фольша: перед экстракцией липидов биомассу подвергали

термообработке на водяной бане при 100<sup>0</sup>С 5 мин. Далее к навеске биомассы (m=100мг) добавляли 1 мл экстрагента СНСl<sub>3</sub> (хлороформ): СН<sub>3</sub>ОН (метанол) (2:1, об.), ресуспендировали и выдерживали на термошейкере при 50<sup>0</sup>С и 1400 об/мин в течение 30 мин. После этого образцы центрифугировали при 13200 об/мин (центрифуга Eppendorf, Германия) в течение 5 мин. От осадка отделяли супернатант и добавляли к нему 0,2 объема 0,8 % водного раствора NaCl. Полученную смесь интенсивно ресуспендировали и центрифугировали при 3500 об/мин в течение 5 мин. Водную фазу удаляли и определяли содержание липидов в органической фазе. К полученному экстракту, содержащему 14% (об.) СН<sub>3</sub>ОН, добавляли NaOH до концентрации 1% (масс.). Смесь ресуспендировали и выдерживали на термошейкере при 50<sup>0</sup>С и 1400 об/мин в течение 30 мин. По истечении указанного времени наблюдалось формирование межфазового расслоения. Образцы центрифугировали (13200 об/мин, 5 мин) и отделяли органическую фазу (биодизель). Было определено остаточное содержание липидов в экстракте и рассчитаны выходы биодизеля на 1г исследуемой биомассы (табл. 1). Выход конечного продукта составил 85% от теоретически возможного. Это связано, по-видимому, с тем, что в состав липидного экстракта помимо свободных и связанных в триацилглицерины жирных кислот входили другие гидрофобные соединения.

*Оценка энергозатратности процесса получения биодизеля в лабораторных условиях.* Оценка энергозатратности процесса получения биодизеля в лабораторных экспериментах была проведена в терминах Net energy ratio (NER) или чистых энергетических затрат, что позволяет проводить сравнение с аналогичной характеристикой для ископаемого топлива (традиционного дизеля). На основе собственных лабораторных экспериментов энергозатраты на процесс производства биодизеля из микроводоросли *A. platensis* с низким содержанием липидов (0,12 кг масла/кг биомассы) и продуктивностью 10 10 г/м<sup>2</sup>/сутки составили порядка 613 кВтч/1 кг масла. Удельное энергосодержание МКВ в работе [7] и в наших экспериментах было близко и составляло порядка 22 МДж/кг сухой биомассы. Оценка NER дали величину 66,25, что значительно превышает оценки, полученные в других исследованиях. Большие энергетические затраты в наших лабораторных экспериментах определяются методами культивирования (высокое потребление электрической и тепловой энергии при выращивании биомассы в климатических условиях России) и сбора урожая (минимальные затраты энергии при гравитационном методе фильтрации биомассы на ситах).

Таблица 1.

Содержание липидов в биомассе МКВ из коллекции НИЛ ВИЭ (по флуоресценции с Нильским красным) и выход биодизеля (мг/г биомассы)

№	Род/вид/штамм микроводорослей	Содержание нейтральных липидов, %	Выход биодизеля, мг/г
1	<i>Arthrospira platensis rsemsu P (Bios)</i>	19,0	86±10

2	<i>Arthrospira platensis rsemsu P (Bios)</i>	30,9	163±17
3	<i>Arthrospira platensis rsemsu P (Bios)</i>	45,7	410±23
4	<i>Arthrospira platensis rsemsu 1/02-T</i>	36,1	188±18
5	<i>Arthrospira platensis rsemsu 1/02-T</i>	47,1	320±20
6	<i>Elliptochloris subsphaerica rsemsu N-1/11-B</i>	25,0	155±10
7	<i>Chlamydomodium starrii rsemsu Chcc-14/11</i>	43,2	322±13
8	<i>Stigeoclonium sp. rsemsu St-m-13/11</i>	25,7	164±10
9	<i>Chlorella sp. rsemsu Chl-1/11-B</i>	31,1	205±11
10	<i>Chlamydomonas globosa rsemsu Chlam-15/11</i>	58,3	420±20

Поскольку зависимость чистых энергетических затрат (NER) от продуктивности и содержания липидов в микроводорослях линейное, то при повышении содержания липидов вдвое (до 24-25%), что реалистично и доказано нашими экспериментальными исследованиями с двухстадийным культивированием различных видов микроводорослей, NER в нашем лабораторном эксперименте может снизиться до 33 и менее. Сравнение процесса получения биодизеля работы из [7] с лабораторным регламентом наших экспериментов показало, что основное отличие в энергетических затратах определяется методами культивирования и сбора урожая. Анализ чувствительности энергоэффективности производства биодизеля относительно а) затрат ископаемого топлива на производство электрической энергии; б) концентрация масла в микроводорослях; в) суточной продуктивности биомассы показывает, что наименьшая чувствительность проявляется к выбору типа оборудования (потребления энергии насосами, центрифугой и т.п.). Наибольшая чувствительность – к содержанию масла и продуктивности микроводорослей.

#### Выводы

– Апробированы разные способы предобработки биомассы МКВ и их влияние на эффективность экстракции суммарных липидов; установлено, что наиболее эффективным подходом является выдерживание биомассы МКВ на водяной бане при 100°С в течение 5 мин.

– Апробированы лабораторные методики получения биодизельного топлива переэтерификацией в щелочных условиях хлороформо-метанольных экстрактов липидов (метод экстракции Фольша) из образцов биомассы микроводорослей (коллекция НИЛ ВИЭ).

– Прослеживается прямая зависимость между содержанием нейтральных липидов в биомассе микроводорослей и количеством получаемого биодизельного топлива. Наибольший выход биодизеля был получен из биомассы микроводорослей *Chlamydomonas globosa Chlam-15/11* (471 ±25 мг/г биомассы и 420±20 мг/г биомассы) и *Arthrospira platensis rsemsu 1/02-P* (410±23 мг/г биомассы).

– Оценка NER дали величину 66,25, что значительно превышает оценки, полученные в других исследованиях. Большие энергетические затраты в наших лабораторных экспериментах определяются методами культивирования

(высокое потребление электрической и тепловой энергии при выращивании биомассы в климатических условиях России) и сбора урожая (минимальные затраты энергии при гравитационном методе фильтрации биомассы на ситах).

– Наименьшая чувствительность энергоэффективности производства биодизеля проявляется к выбору типа оборудования (потребления энергии насосами, центрифугой и т.п.), наибольшая чувствительность – к содержанию масла и продуктивности микроводорослей.

Работа выполнена в НИЛ ВИЭ географического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

#### Литература

1. Chernova N. I., Kiseleva S. V. Microalgae biofuels: Induction of lipid synthesis for biodiesel production and biomass residues into hydrogen conversion//International Journal of Hydrogen Energy. – 2017. – V. 42. № 5. – P. 2861-2867.
2. Коробкова Т.П. Метод определения нейтральных липидов при первичном скрининге липидообразующих микроводорослей//Возобновляемые энергоресурсы атмосферы, гидросферы, биосферы: лабораторный практикум / Под ред. А.А.Соловьева. – М.: Университетская книга, 2013. – С.147-155.
3. Соловченко А., Чивкунова О., Семенова Л. И. др. Влияние стрессов на содержание пигментов и жирных кислот липидов в клетках микроводоросли *Desmodesmus sp* из беломорского гидроида//Физиология растений. – 2013. – Т. 60. № 3. – С. 1-10.
4. Folch J., Lees M., Stanley G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues//J. Biol. Chem. – 1957. – V. 226. №. 1. – P. 497-509.
5. Bligh E.G. and Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification, Canadian Journal Biochemistry and Physiology. 1959. – V. 37. – P. 911-917.
6. Guan-Hua Huang, Gu Chena, Feng Chena. Rapid screening method for lipid production in alga based on Nile red fluorescence//Biomass and Bioenergy. – 2009. – V. 33. – P. 1386-1392.
7. Haward Passel et al. Journal of Environmental Management. – 2013. – V. 129. – P. 103-111.

УДК 631.46

## СРАВНЕНИЕ СПЕКТРОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У СТРЕПТОМИЦЕТОВ ИЗ СЕЛИТЕБНОЙ И ПРОМЫШЛЕННОЙ ЗОН ГОРОДА

Широких И.Г.

*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,*

*irgenal@mail.ru*

Аннотация. Выявлены различия в спектрах антибиотикорезистентности у изолятов стрептомицетов, выделенных из почв разных функциональных зон города. Показаны различия между антибиотикограммами изолятов, выделенных в селитебной и промышленной зонах, а также в зависимости от давности отбора почвенных образцов и наличия в составе культуральной среды аммиачного азота.

Ключевые слова: антибиотики, устойчивость, стрептомицеты, городские почвы, функциональные зоны

В связи с широким использованием антибиотиков не только в клинической практике, но и в народном хозяйстве, все больше обостряется проблема приобретенной антибиотикорезистентности (АР) микроорганизмов. На селитебных территориях она часто сопряжена с ненадлежащим управлением коммунальными и промышленными отходами. Также имеются данные об увеличении количества антибиотикорезистентных микроорганизмов в загрязненных почвах, по сравнению с биотопами, не подвергшимися загрязнению. Ключевая роль загрязняющих веществ в возникновении АР у клинически значимых штаммов стала в настоящее время очевидной.

В естественных условиях бактерии, несущие гены устойчивости к антибиотикам, являются частью сложных микробных сообществ, где они взаимодействуют с другими видами. Тем не менее, часто упускается из виду популяционный аспект этих взаимодействий, неизвестно, какие процессы сдерживают или стимулируют устойчивость к антибиотикам в многовидовых почвенных сообществах [1]. В случае распространения генов устойчивости к антибиотикам через систему горизонтального переноса генов, микробные сообщества могут рассматриваться как сети совместного использования генов, где видовой состав и разнообразие микробного комплекса являются основным фактором, определяющим направленность и интенсивность процесса распространения устойчивости [2]. Обусловленный загрязнителями стресс вызывает в клетках процессы, которые увеличивают вероятность приобретения и активации генов АБ любой клеткой, вне зависимости от присутствия в среде антибиотиков, только за счет большей интенсивности горизонтальной передачи генов. Таким образом, вероятность появления устойчивости к антибиотикам у бактерий увеличивается в загрязненных экотопах [3]. Поэтому городские почвы, подверженные действию различного типа загрязнений, представляют собой места с повышенным потенциалом для обмена генами между

микроорганизмами. Актуальность данной работы обусловлена необходимостью определения уровня и спектра АР среди почвенных бактерий для оценки рисков, связанных с передачей генов устойчивости из окружающей среды патогенам.

Целью настоящей работы являлось изучение устойчивости природных изолятов стрептомицетов к антибиотикам из разных классов и разного механизма действия.

Места отбора почвенных образцов для выделения культур стрептомицетов на территории города приведены на рисунке 1.



Рисунок 1 – Схема расположения участков отбора почвенных образцов в пределах г. Кирова. 1 ☐ Северная больница; 2 – ОЦМ; 3 ☐ ОАО «Лепсе», 4 ☐ Октябрьский проспект, 87; 5 ☐ Искож; 6 ☐ Шинный завод; 7 ☐ сквер на Театральной площади; 8 ☐ Парк Гагарина, 9 ☐ ул. Ленина, 104; 10 ☐ Центральный рынок

Перед посевом почву прогревали при  $100^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа для селективного ограничения роста немисцелиальных бактерий. Посев из разведений почвенных суспензий осуществляли на казеин-глицериновый агар. Выделенные в чистую культуру изоляты использовали для определения чувствительности/резистентности к антибиотикам из разных классов и разных механизмов действия. Применяли диски индикаторные ДИ-ПЛС-50-01 по ТУ 9398-001-39484474-2000 (НИЦФ, СПб, Россия) с антибиотиками в следующих концентрациях: тетрациклин (ТЕТ) - 30 мкг; триметоприм/сульфаметоксазол (ТС) – 1,25/23,75 мкг; налидиксовая кислота (НК) – 30 мкг; амоксициллин/клавулановая кислота (АКК) – 20/10 мкг; линкомицин (ЛНК) – 15 мкг; рифампицин (РФМ) – 5 мкг; полимиксин (ПМ) – 300 ЕД; стрептомицин (СТР) - 300 мкг. Выбор антибиотиков был обусловлен различными мишенями их действия: действующие на 30S – субъединицу рибосом (СТР, ТЕТ), действующие на 50S – субъединицу рибосом (ЛНК), на бета-субъединицу РНК-полимеразы (РФМ), ингибирующий синтез клеточной стенки (АКК), блокирующий синтез ДНК (НК) и антиметаболит фолиевой кислоты (ТС), а также ингибитор цитоплазматической мембраны (ПМ).

Спектр АР стрептомицетов в почвах промышленной зоны был несколько шире (7 антибиотиков), чем в почвах селитебной зоны (6 антибиотиков) (рис. 1).

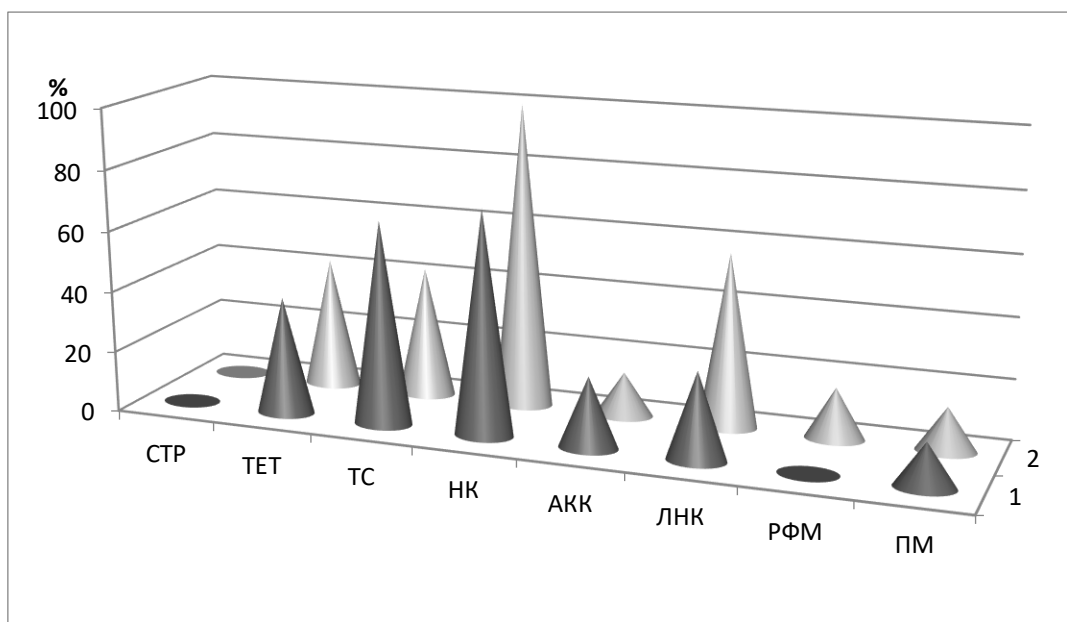


Рисунок 2 □ Доля устойчивых к различным антибиотикам изолятов из почв селитебной (1) и промышленной (2) зоны г. Кирова. Приведены средние данные по 5 образцам из одной зоны.

Среди штаммов из почв селитебной зоны доля устойчивых к ТС (40-66,7%) и АКК (23,1-44,4%), была существенно выше, чем среди изолятов из почв промышленной зоны □ (12,5-42,9%) и (0-14,3%) соответственно. В то же время, доля штаммов, резистентных к линкомицину (57,1-92,3%) и НК (50-100%), в почве промышленной зоны достоверно превышала их долю в почве из селитебной зоны □ (28,6-80%) и (73,3-85,7%) соответственно. Разница в антибиотикограммах между стрептомицетными комплексами двух зон может объясняться различной природой доминирующих в этих почвах загрязнителей. Так, загрязнителями промышленной зоны являются преимущественно тяжелые металлы, тогда как в селитебной зоне – органические и минеральные соединения азота.

В отдельном эксперименте были показаны различия в спектрах АР изолятов стрептомицетов, в зависимости от наличия в составе питательной среды аммиачного азота. В его присутствии доля устойчивых к линкомицину стрептомицетов повышается по сравнению с контролем с 28,6 до 80% среди почвенных изолятов селитебной зоны, а среди изолятов из почв промышленной зоны □ с 57 до 92% (рис. 2).

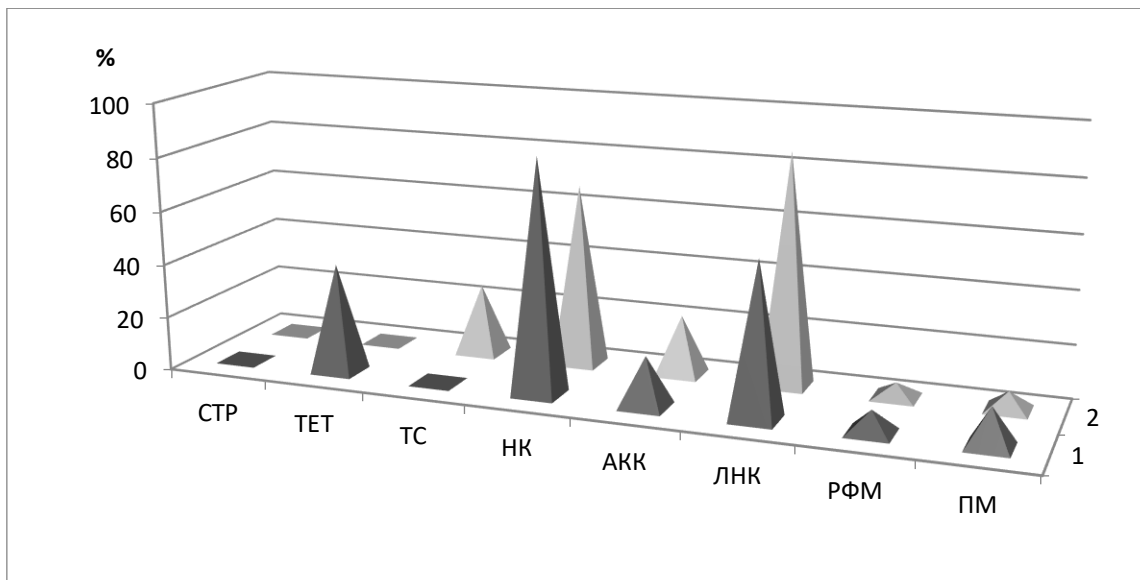


Рисунок 2 – Доля устойчивых к различным антибиотикам изолятов в зависимости от наличия в среде аммиачного азота: 1 – контроль; 2 – среда с аммиачным азотом.

Увеличивается доля штаммов с устойчивостью к ТС, а доля устойчивых к ТЕТ и ПМ культур, напротив, снижается. На величину спектра антибиотикорезистентности ионы аммония влияния не оказали.

Выявлены также изменения в долевом соотношении чувствительных и устойчивых к антибиотикам стрептомицетов в зависимости от давности отбора почвенных образцов в пределах рассматриваемых функциональных зон. Если в городских почвах, отобранных до 2015 года, обнаружены культуры стрептомицетов с устойчивостью к семи из восьми тест-антибиотиков, то культуры 2019 г. выделения проявили устойчивость лишь к пяти тест-антибиотикам (рис. 3).

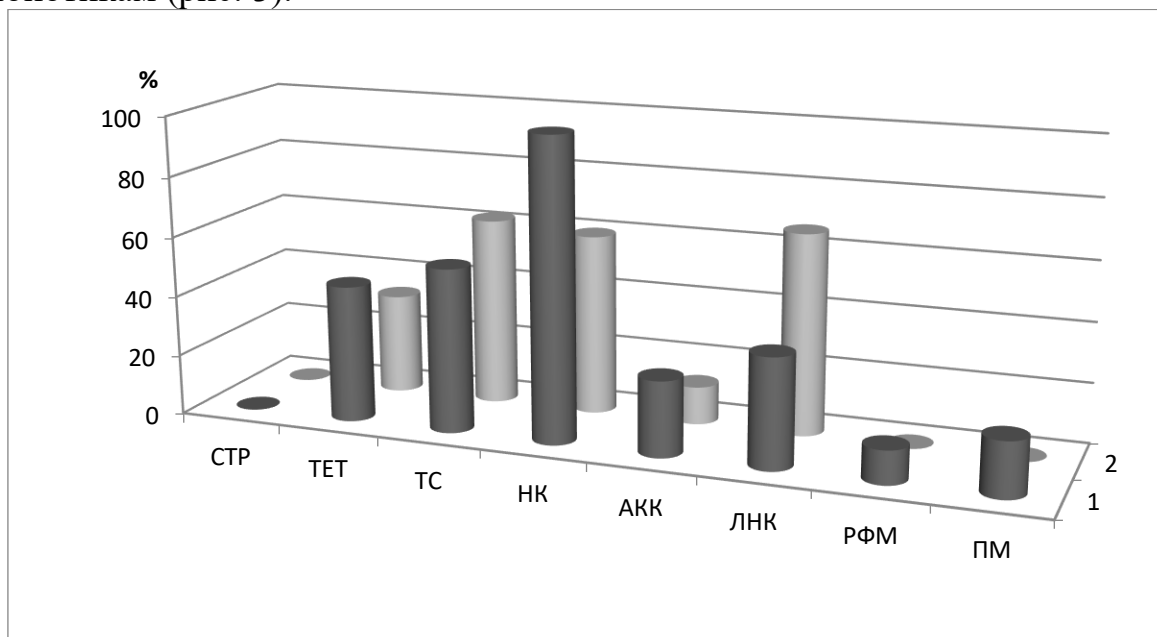


Рисунок 3 – Доля устойчивых к антибиотикам изолятов стрептомицетов в зависимости от срока отбора образцов: 1 – до 2015 г.; 2 – в 2019 г.



Среди ранних изолятов не обнаружено устойчивых к СТР, а среди свежих изолятов не выявлено устойчивых к СТР, РФМ и ПМ. Сужение спектра антибиотикорезистентности почвенных стрептомицетов следует рассматривать как положительную тенденцию, указывающую на стабильность ситуации с почвенным загрязнением в пределах обследованных территорий города.

Чаще других в городских почвах встречаются стрептомицеты с устойчивостью к налидиксовой кислоте, линкомицину и триметоприму/сульфаметоксазолу. Распространение форм с резистентностью к клинически значимым антибиотикам: стрептомицину, амоксиклаву, рифампицину и полимиксину остается достаточно ограниченным, что указывает на удовлетворительную ситуацию с распространением генов антибиотикорезистентности как в селитебной, так и в промышленной зоне г. Кирова.

#### Литература

1. Cytryn E. The soil resistome: the anthropogenic, the native, and the unknown // *Soil biology and biochemistry*. – 2013. – V. 63. – P. 18-23.
2. Hiltunen T., Virta M., Laine A.-L. Antibiotic resistance in the wild: an ecoevolutionary perspective//*Philosophical Transaction B*. – 2016. – № 372. – P. 1-7.
3. Knapp C.W., McCluskey S.M., Singh B.K., Campbell C.D., Hudson G., Graham D.W.L. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils//*PLoS One*. – 2011. – V. 6. № 11. – P. e27300.

Научное издание

# **Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах**

**Материалы III Всероссийской  
научно-практической конференции с международным участием,  
посвященной 110-летию со дня рождения профессора  
Эмилии Адриановны Штиной**

**26-30 октября 2020 г.**

Технический редактор И.В. Окишева  
Заказ № \_\_\_\_ . Подписано к печати \_\_\_\_\_  
Тираж 500 экз. Формат 60x80 1/16  
Бумага офсетная. Усл. п. л. 9,63