

режья озера Байкал показательна стойкая тенденция к снижению продолжительности субсезона «первозимье».

### **Литература**

1. Зайцев Г.Н. Математический анализ биологических данных. – М.: Наука, 1991. – 184 с.
2. Романова Н.Г. Влияние метеоусловий на сезонный ритм развития *Sorbus sibirica* Hedl // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: мат-лы VII Междунар. науч.-практ. конф. (21–24 октября 2008 г., Барнаул). – Барнаул, 2008. – С. 278–282.



УДК 58.084.1; 574.24; 631.474; 631.452

*Н.В. Пахарькова, С.В. Прудникова, А.С. Гекк,  
А.Н. Ларькова, Н.С. Коростелева*

### **ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫБОРА РАСТЕНИЙ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОЙ СИБИРИ\***

Для оптимизации методов биоремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, проведен анализ аборигенных видов растений на устойчивость к нефтяному загрязнению. В качестве тест-параметров измерены показатель замедленной флуоресценции хлорофилла и общая численность органотрофных бактерий в ризосфере растений при внесении в почву сырой нефти и продуктов ее переработки. Из ризосферной почвы выделены и идентифицированы углеводородокисляющие бактерии родов *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*.

**Ключевые слова:** биоремедиация нефтезагрязненных почв, замедленная флуоресценция хлорофилла, углеводородокисляющие микроорганизмы.

*N.V. Pakharkova, S.V. Prudnikova, A.S. Gekk,  
A.N. Larkova, N.S. Korosteleva*

### **OPTIMIZATION OF PLANT CHOICE FOR BIOREMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED WITH OIL AND OIL PRODUCTS IN THE SOUTH SIBERIA CONDITIONS**

In order to optimize the bioremediation methods for soils contaminated with oil and oil products, the analysis of the indigenous plant species on the resistance to the oil contamination is conducted. The indicator of the delayed chlorophyll fluorescence and the total number of organotrophic bacteria in the plant rhizosphere in the introduction into the soil of crude oil and its processing products are measured as the test-parameters. From rhizosphere soil the hydrocarbon-oxidizing bacteria of the *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas* genera are isolated and identified.

**Key words:** bioremediation of oil-contaminated soils, delayed chlorophyll fluorescence, hydrocarbon-oxidizing microorganisms.

**Введение.** Одним из важных факторов загрязнения окружающей среды, в том числе почвы, являются нефть и нефтепродукты. Большинство травянистых растений чувствительны к загрязнению почвы нефтью, но в разной степени [1–4].

Биоремедиация является одним из наиболее действенных, быстрых, экологически безопасных и эффективных с экономической точки зрения методов восстановления загрязненных земель. В процессе своей жизнедеятельности растения входят в сложные взаимоотношения с микроорга-

\* Работа выполнена за счет средств государственного задания на проведение фундаментальных исследований РАН (проект № гос. регистрации 01201351505).

низмами, населяющими почву. В естественных условиях обитания микроорганизмы, окружающие растения, влияют на их рост и развитие. В свою очередь, каждая культура, стимулируя рост, накапливает определенную микробиоту, так как ризосфера растений является зоной, в которой происходит адаптация почвенной микробиоты к условиям, создаваемым активно растущими растениями. Из литературных данных известно, что бобовые формируют в ризосфере комплекс микроорганизмов, многие из которых могут разлагать углеводороды нефти и нефтепродуктов до более простых соединений. Но для того, чтобы из множества аборигенных видов растений и микроорганизмов выбрать подходящие для использования в биоремедиационном процессе, необходимо оценить их устойчивость к загрязнению нефтью и нефтепродуктами.

Под воздействием различных концентраций нефти у растений замедляется рост, нарушаются функции фотосинтеза и дыхания, изменяется структура хлоропластов, в значительной мере страдают корневая система, листья, стебли, репродуктивные органы [5].

Некоторые исследователи отмечают, что первоначально нефть может выступать как биологический стимулятор при низких уровнях загрязнения, тогда как высокие дозы приводят к длительно необратимым изменениям микробиологических свойств почв, в дальнейшем к модификации водно-воздушного режима [4, 6].

Таким образом, то, что нефть оказывает значительное негативное воздействие на жизнедеятельность высших растений, едва ли является дискуссионным вопросом. Вместе с тем при более детальном рассмотрении воздействия нефти на конкретные морфологические или биохимические параметры, которые могли бы использоваться в качестве индикационных показателей состояния растений при загрязнении почвы нефтью, трудно сделать однозначные выводы. Необходимо найти метод, позволяющий на ранних стадиях и в достаточно короткий срок определить степень повреждения растений для принятия соответствующих мер. Одним из таких перспективных подходов является метод, основанный на регистрации параметров замедленной флуоресценции хлорофилла [7]. Согласно современным представлениям, флуоресценция хлорофилла, и в первую очередь кинетические характеристики этого процесса, могут служить показателями структурных и функциональных свойств фотосинтетических мембран у растений и использоваться при разработке методов экспресс-анализа влияния различных факторов на фотосинтетическую активность хлоропластов [8–10].

**Методы, объекты и район исследования.** В качестве объектов исследования были взяты козлятник лекарственный – *Galega officinalis*, лядвенец рогатый – *Lotus corniculatus*, люцерна посевная или синяя – *Medicago sativa*, люцерна серповидная или желтая – *Medicago falcata*. Для выращивания растений использовали серую лесную почву, взятую в лесном массиве в окрестностях города Красноярска. В процессе эксперимента в контейнеры с почвой были добавлены нефть, дизельное топливо, бензин марки АИ-92 в массовой доле 5 %, а также – контрольные образцы. В каждый контейнер посажено по 100 семян растений каждого из исследуемых видов. Растения выращивались в течение двух месяцев, затем были проведены замеры их морфологических показателей и параметров замедленной флуоресценции хлорофилла листьев.

Для измерения показателей замедленной флуоресценции (ЗФ) хлорофилла использовали разработанный на кафедре экологии и природопользования СФУ флуориметр «ФОТОН 10». В качестве относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ) было взято отношение значений интенсивности быстрой и медленной компонент затухания свечения, измеряемых на свету высокой ( $120 \text{ вт}/\text{м}^2$ ) и низкой ( $10 \text{ вт}/\text{м}^2$ ) интенсивности соответственно. Данный параметр характеризует активность фотосинтетического аппарата и является хорошим индикатором устойчивости растений к неблагоприятным факторам [11].

С целью оценки устойчивости ризосферной микрофлоры к загрязнению нефтепродуктами анализировали общую численность органотрофных ризосферных бактерий путем высеива почвенных разведений ( $10^6$ – $10^8$ ) на плотный питательный агар в чашки Петри [12]. Посевы инкубировали при  $30^\circ\text{C}$ , учет микроорганизмов проводили на 3–7-е сутки. Выделение углеводородокисляющих микроорганизмов из образцов почвы проводили на минеральной среде с добавлением стерильной

сырой нефти в качестве единственного источника углерода и энергии [12]. Идентификацию микроорганизмов производили методом масс-спектрометрии с использованием MALDI-TOF MS. Для анализа масс-спектров использовали программное обеспечение фирмы Bruker Daltonics (Германия): FlexControl 2.4.

Образцы нефти были взяты с месторождения Кумколь (Республика Казахстан) из скважины 1125. Изучение состава и свойств кумкольской нефти весьма важно для понимания ее воздействия на живые организмы. Нефть месторождения Кум科尔ь малосернистая (серы 0,47%), парафинистая (парафина 14,3 % с температурой застывания минус 6,5°C), содержание асфальтено-смолистых компонентов колеблется от 2,85 до 5,45 %, коксуемость 1,64 % [13, 14]. Из нефтепродуктов были взяты бензин марки АИ-92 [15] и дизельное топливо [16].

**Результаты и их обсуждение.** Наибольшее снижение всхожести семян было отмечено при загрязнении почвы нефтью (табл.). Оценивая видовые различия всхожести семян, нужно отметить, что у семян козлятника лекарственного (*Galega officinalis*) минимально уменьшается всхожесть, а максимальное снижение всхожести семян зарегистрировано у люцерны синей (*Medicago sativa*).

#### **Всхожесть семян и масса растений при загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами**

Вариант опыта	Вид растений	Длина, см	Длина, % к контролю	Масса, г	Масса, % к контролю
Почва+ нефть	<i>Medicago falcata</i>	2,0±0,10	69,6	2,0±0,11	52,7
	<i>Galega officinalis</i>	1,6±0,08	91,0	1,8±0,09	83,8
	<i>Medicago sativa</i>	1,6±0,08	69,5	2,0±0,10	94,7
	<i>Lotus corniculatus</i>	1,7±0,09	90,9	1,9±0,10	77,4
Почва+ ДТ	<i>Medicago falcata</i>	2,1±0,11	75,0	2,7±0,14	70,2
	<i>Galega officinalis</i>	1,4±0,08	80,9	1,9±0,11	88,1
	<i>Medicago sativa</i>	2,2±0,11	92,4	2,7±0,13	130,1
	<i>Lotus corniculatus</i>	2,0±0,10	105,9	2,4±0,12	98,8
Почва+ бензин	<i>Medicago falcata</i>	2,2±0,12	78,6	3,2±0,17	84,1
	<i>Galega officinalis</i>	1,5±0,08	83,2	2,7±0,13	129,5
	<i>Medicago sativa</i>	2,2±0,11	94,9	2,1±0,11	102,4
	<i>Lotus corniculatus</i>	1,8±0,08	96,3	2,0±0,12	82,3
Почва, контроль	<i>Medicago falcata</i>	2,8±0,13	100,0	3,8±0,18	100,0
	<i>Galega officinalis</i>	1,8±0,10	100,0	2,1±0,11	100,0
	<i>Medicago sativa</i>	2,4±0,11	100,0	2,1±0,10	100,0
	<i>Lotus corniculatus</i>	1,9±0,10	100,0	2,4±0,13	100,0

Результаты, полученные при регистрации параметров замедленной флуоресценции (рис. 1), согласуются с данными по биомассе выращенных растений (табл.). Наибольшее снижение показателей замедленной флуоресценции отмечено у люцерны серповидной, этот вид оказался самым чувствительным к загрязнению нефтью и нефтепродуктами.

Наиболее устойчивые виды – козлятник лекарственный и люцерна посевная, где интенсивность замедленной флуоресценции, а следовательно, и скорость фотосинтеза увеличились. Это свидетельствует, что эти растения, попадая в неблагоприятные условия, увеличивают скорость метаболизма для повышения устойчивости. Таким образом, нефть и нефтепродукты в массовой доле 5 % не наносят ощутимого вреда растениям этих видов.

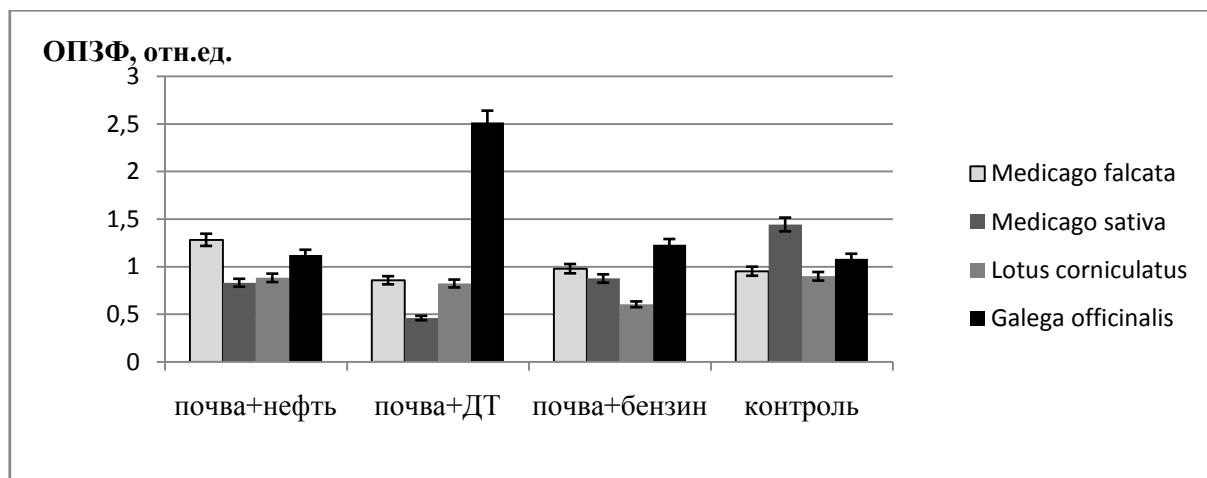


Рис. 1. Относительный показатель замедленной флуоресценции хлорофилла листьев исследуемых растений

Микробиологический анализ прикорневой микрофлоры показал отсутствие четкой зависимости нарастания численности прикорневой микрофлоры разных растений от типа вносимого нефтепродукта. Тем не менее можно отметить резко положительную динамику численности органотрофных бактерий при воздействии сырой нефти и бензина в большинстве исследованных образцов растений (рис. 2). Наименьший прирост численности ризосферных микроорганизмов был отмечен при внесении дизельного топлива, а в варианте с *Lotus corniculatus* даже наблюдалось снижение численности бактерий в 2,4 раза по сравнению с контролем. Это может быть связано с пониженной способностью микроорганизмов к биотрансформации углеводородов более тяжелой фракции.

Высокую чувствительность к нефтепродуктам проявили бактерии ризосфера люцерны посевной (*Medicago sativa*), их численность увеличилась в 10–1000 раз по сравнению с контролем. Наиболее устойчивой к загрязнению нефтепродуктами микрофлорой обладал козлятник лекарственный (*Galega officinalis*), так как численность бактерий в ризосфере этого вида достоверно не отличалась от контроля.

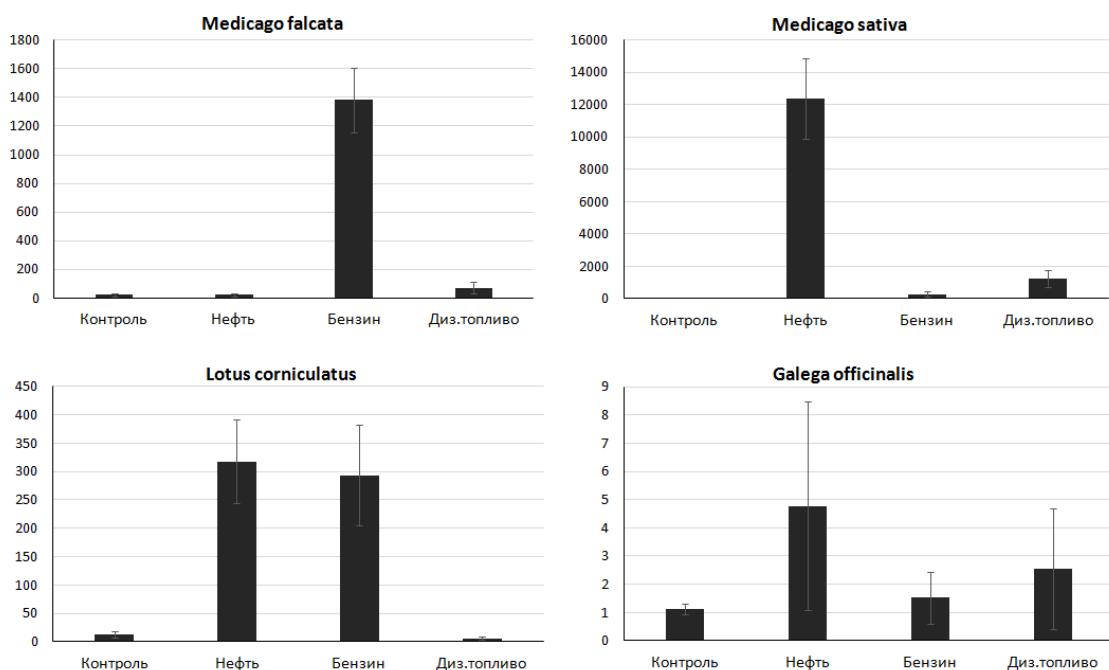


Рис. 2. Численность ризосферных бактерий (млн КОЕ в 1 г почвы) при загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами

Методом масс-спектрометрии идентифицированы виды, входящие в сообщество ризосферных микроорганизмов и использующие углеводороды нефти в качестве субстрата. Выделенные микроорганизмы представлены родами *Bacillus* (*B.pumilus*, *B.cereus*), *Rhodococcus* (*R.fascians*) и *Pseudomonas* (*Ps. congelans*, *Ps. monteili*, *Ps. grimontii*, *Ps. koreensis*). Эти представители, согласно литературным данным [17], являются активными деструкторами углеводородов нефти.

Таким образом, учитывая показания замедленной флуоресценции хлорофилла и данные по накоплению почвенной микробиоты в прикорневой зоне исследуемых растений, в качестве перспективного фиторемедианта почв, загрязненных углеводородами нефти, можно рекомендовать козлятник лекарственный (*Galega officinalis*). Для повышения эффективности очистки почв от нефтезагрязнителей интерес представляет комплексное использование *Galega officinalis* и сообщества выделенных микроорганизмов – деструкторов нефти.

### **Литература**

1. Калюжин В.А., Рублева С.В. Сравнительное влияние нефти и нефтепродуктов на всхожесть сельскохозяйственных культур // Контроль и реабилитация окружающей среды: мат-лы Междунар. симп. – Томск, 1998. – С. 167.
2. Гарипов Т.Т., Хакимов В.Ю., Гарипова С.Р. Токсичность почв при загрязнении нефтепромысловыми сточными водами // Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан: мат-лы конф. – Казань, 2000. – С. 105.
3. Петухова Г.А., Ануфриева В.В., Самсонова Н.А. Особенности морфо-физиологического развития растений в условиях нефтяного загрязнения среды // Тез. докл. II Междунар. конф. по анатомии и морфологии растений. – СПб.: БИН РАН, 2002. – С. 306.
4. Киреева Н.А., Тарабенко Е.М., Бакаева М.Д. Детоксикация нефтезагрязненных почв под посевами люцерны (*Medicago sativa L.*) // Агрохимия. – 2004. – № 10. – С. 68–72.
5. Хабибуллин Р.А., Коваленко М.В. Состояние исследований по оценке и ликвидации последствий загрязнения почвы нефтью по фитотоксичности // Рекультивация земель в СССР: тез. докл. Всесоюз. конф. – М., 1982. – Т.2. – С. 149–152.
6. Пащенко В.Н. Комплексная устойчивость растений к химическому загрязнению окружающей среды // Экология. – 1984. – № 1. – С. 52–63.
7. Пахарькова Н.В., Бондарева Л.Г., Каллякина О.П. Флуоресцентная диагностика состояния растений при разливах нефти и нефтепродуктов // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2014. – № 10. – С. 11–16.
8. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. Теоретические и практические аспекты. – М.: Наука, 1990. – 200 с.
9. Simultaneous analysis of prompt and delayed chlorophyll a fluorescence in leaves during the induction period of dark to light adaptation / V. Goltsev, I. Zaharieva, P. Lambrev [et al.] // Journal of Theoretical Biology. – 2003. – 225(2). – P. 171–183.
10. Delayed fluorescence in photosynthesis / V. Goltsev, I. Zaharieva, P. Chernev [et al.] // Photosynthesis Research. – 2009. – 101. – P. 217–232.
11. Патент № 2069851. Способ определения содержания фитотоксических веществ / Григорьев Ю.С., Фуряев Е.А., Андреев А.А. – Бюл. № 33 от 27.11.96.
12. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
13. Айдарбаев А.С. Теория и практика разработки нефтяного месторождения Кумколь. – Алматы: Еылым, 1999. – 275 с.
14. Сейткасымов Б.С. Повышение эффективности методов борьбы с асфальто-смоло-парафиновыми отложениями на месторождениях Южно-Тургайского прогиба Республики Казахстан: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 28.03.06. – М.: Изд-во РГУНиГ, 2006. – 23 с.
15. ГОСТ Р 51866-2002 (ЕН 228-2004). Бензин неэтилированный. Технические условия. – М.: Изд-во станд., 2012.
16. ГОСТ 305-82. Топливо дизельное. – М.: Изд-во станд., 2012.

17. Tyagi M., Fonseca M.M.R., Carvalho C.C.R. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes // Biodegradation. – 2010. – № 22. – P. 231–241.
- 

УДК 332. 334.4

T.B. Симакова, Л.Н. Скипин

## СОСТОЯНИЕ ЗЕМЕЛЬНЫХ РЕСУРСОВ НА ТЕРРИТОРИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО ПОЛИГОНА ГОСУДАРСТВЕННОГО МОНИТОРИНГА ЗЕМЕЛЬ «НИЖНЕТАВДИНСКИЙ» ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

В статье представлены современное состояние земель сельскохозяйственного назначения в условиях Тюменской области, разработка научно-методического подхода к выполнению элементов экологического картирования территории и установлению зон с соответствующей степенью состояния и использования земель для их рациональной организации, сохранения, развития и восстановления природно-ресурсного потенциала.

**Ключевые слова:** мониторинг земель сельскохозяйственного назначения, зарастание, эрозия, экономический ущерб, прогноз развития негативных процессов, функционально-экологическое зонирование.

T.V. Simakova, L.N. Skipin

## THE LAND RESOURCE CONDITION IN THE TERRITORY OF THE STATE SOIL MONITORING FEDERAL POLYGON «NIZHNETAVDINSKY» IN TYUMEN REGION

The article presents the current state of the agricultural lands in the Tyumen region conditions, the development of the scientific-methodical approach to the implementation of the territory environmental mapping elements and the establishment of areas with the relevant degree status and use of lands for their efficient organization, preservation, development and restoration of the natural-resource potential.

**Key words:** monitoring of agricultural lands, clogging, erosion, economic damage, forecast of negative process development, functional-ecological zoning.

---

**Введение.** Актуальность мониторинга земель сельскохозяйственного назначения обусловлена изменением состояния земель под влиянием негативных процессов, отрицательно влияющих на хозяйственную ценность сельскохозяйственных угодий. Отсутствие мониторинговых обследований, анализа тенденций и прогнозирования развития негативных процессов может привести к тому, что негативные изменения в природных комплексах приобретут необратимый характер. Нарастание спада, деградации агроэкосистем и их компонентов, в том числе и почв, предопределяет экологический кризис [1].

В борьбе с негативными процессами необходимо применять комплекс организационно-хозяйственных, агротехнических, лесомелиоративных и гидротехнических мероприятий. Основная задача комплекса – приостановить эрозию и восстановить плодородие эродированных почв, а на участках, где эрозия еще не наблюдается, предупредить ее возникновение, то есть устраниТЬ причины, которые смогут ее вызвать [4].

Организационно-хозяйственные мероприятия подразумевают использование земель исходя из пригодности для конкретных хозяйственных целей. Они должны обеспечить рациональную структуру посевных площадей и севооборотов и размещение в ландшафтной соподчиненности границ полей и лесополос, что обеспечит наиболее полную оптимизацию использования земель, увеличение производства сельскохозяйственной продукции с 1 га площади, частичное и полное прекращение эрозионных процессов, повышение плодородия почв [4].