

на правах рукописи

**БАГАУТДИНОВА ГУЛЬНАЗ ГАЛИМОВНА**

**ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА «МЕТАБОЛИТ» НА  
БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЧЕРНОЗЕМА  
ВЫЩЕЛОЧЕННОГО, УСТОЙЧИВОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ  
НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

Специальность 03.02.08 – Экология (биологические науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Уфа – 2011

Работа выполнена на кафедре экологии Башкирского государственного университета

- Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
**Киреева  
Наиля Ахияфовна**
- Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Хазиев Фангат Хаматович**
- доктор биологических наук, профессор  
**Саксонов Сергей Владимирович**
- Ведущая организация:** Южный федеральный университет  
(г.Ростов-на-Дону)

Защита состоится 9 декабря 2011 года в 14 часов на заседании Объединенного диссертационного совета ДМ 002.136.01 при Учреждении Российской академии наук Институте биологии Уфимского научного центра Российской академии наук по адресу: 450054, г.Уфа, пр. Октября, д. 69, тел.: 235-53-62, e-mail: ib@anrb.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Уфимского научного центра Российской академии наук и на официальном сайте <http://ib.anrb.ru/sovet.html>

Автореферат разослан

«    » ноября 2011г.

Ученый секретарь Объединенного диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Р.В Уразгильдин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** В последнее время проблемам экологизации агропроизводства уделяется большое внимание, т.к. во всем мире возрос интерес к производству экологически безопасной и чистой растительной продукции, не содержащей тяжелых металлов, радионуклидов, пестицидов, микотоксинов и других токсических поллютантов.

Одной из технологий экологизации земледелия является применение микробных препаратов. Новые биопрепараты, созданные на основе живых микроорганизмов или их метаболитов, обладают ростстимулирующими свойствами, имеют антистрессовую и иммуномодулирующую активность, в том числе повышают устойчивость растений к фитопатогенной инфекции, влиянию других негативных антропогенных факторов (Гельцер, 1990; Vashan, 1998; Логинов, 2005; Мелентьев, 2007; Белимов и др., 2010). Обработка растений биологическими препаратами на основе штаммов симбиотических микроорганизмов, обладающих комплексом свойств, способствующих повышению микробного разнообразия ризосферы, является перспективным способом повышения урожайности сельскохозяйственных культур (Тихонович, Круглов, 2005).

Кроме того, ризосферные микроорганизмы или их метаболиты, являющиеся основой биопрепаратов, способны повышать устойчивость сельскохозяйственных растений к влиянию таких антропогенных факторов, как тяжелые металлы (Белимов, 2008; Шабаев, Мальцева, 2010), засоление (Saganakumar et al, 2007; Egamberdieva, 2009) и др.

Однако в литературе отсутствуют данные об эффективности применения микроорганизмов-симбионтов или их метаболитов при выращивании сельскохозяйственных растений на нефтезагрязненных почвах. Показано, что эктомикоризные и бактериальные ассоциации ускоряют деградацию в почве некоторых ксенобиотиков (Meharg, Cairney, 2000).

**Цель данной работы** – оценка влияния биопрепарата «Метаболит», полученного на основе ассоциативных микромицетов облепихи, относящихся к числу грибов-ассоциантов *Scopulariopsis acremonium*, на биологическую активность чернозема выщелоченного и продуктивность сельскохозяйственных культур, а также его стресспротекторного и детоксицирующего эффекта в условиях нефтяного загрязнения.

### **Задачи исследований**

1. Установить закономерности воздействия нефтяного загрязнения на биологические свойства чернозема выщелоченного под посевами сахарной свеклы и яровой пшеницы: численность и активность микроорганизмов, структуру почвенных микоценозов, фитотоксичность, ферментативную активность и физиолого-биохимическое состояние и продуктивность растений.

2. Исследовать влияние биопрепарата «Метаболит» на микробиологические и ферментативные процессы в черноземе выщелоченном под посевами сахарной свеклы и яровой пшеницы и оценить эффективность его

применения для нормализации фитосанитарного состояния посевов в условиях нефтяного загрязнения.

3. Изучить антистрессовый эффект биопрепарата «Метаболит» для растений сахарной свеклы и яровой пшеницы в условиях нефтяного загрязнения.

4. Оценить возможность использования биопрепарата «Метаболит» для ускорения разложения нефти под посевами растений.

**Научная новизна.** Впервые показано, что использование биопрепарата «Метаболит», представляющего собой биологически активные вещества гриба-ассоцианта, выделенного из корней облепихи, для обработки семян растений сахарной свеклы, является эффективным приемом, оказывающим стимулирующее действие на биологическую активность чернозема выщелоченного, микотрофность корней, урожайность и продуктивность растений. Обработка семян и растений биопрепаратом «Метаболит» снижает численность и видовое разнообразие фитопатогенных микромицетов в ризосфере сахарной свеклы и яровой пшеницы.

Показано положительное влияние биопрепарата «Метаболит» на биологическую активность чернозема выщелоченного, продуктивность яровой пшеницы и сахарной свеклы в условиях нефтяного загрязнения. Применение биопрепарата способствует нормализации численности микроорганизмов и ферментативной активности в ризосфере сахарной свеклы на нефтезагрязненных почвах. Получены новые данные по детоксицирующему и стресспротекторному действию биопрепарата «Метаболит» при воздействии нефти на растения сахарной свеклы и яровой пшеницы.

**Практическая значимость диссертации** заключается в решении одной из задач прикладной экологии – сохранении и повышении плодородия почв и регуляции продукционных процессов, обеспечивающих получение высоких урожаев за счет использования микробного препарата в условиях нефтяного загрязнения.

Полученные результаты исследований могут быть использованы при выборе методов активации микробоценозов почвы и повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Биопрепарат «Метаболит» был предложен для внедрения в практику восстановления плодородия нефтезагрязненных почв. Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе в рамках дисциплин «Рекультивация нарушенных земель», «Биология почв», «Экология почв» и др.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Биологическая активность выщелоченного чернозема и урожайность сахарной свеклы и яровой пшеницы возрастают при обработке семян и растений биопрепаратом «Метаболит», а численность фитопатогенных форм микромицетов снижается.

2. Применение «Метаболита» для обработки семян и посевов сахарной свеклы и яровой пшеницы восстанавливает структуру микробного комплек-

са ризосферы растений и способствует нормализации физиолого- биохимических показателей в условиях нефтяного загрязнения почвы.

**Личное участие автора.** Автор провела аналитический обзор литературы, принимала непосредственное участие в закладке лабораторных и полевых опытов, обработке полученных экспериментальных данных, анализе и обобщении результатов исследований.

**Обоснованность выводов и достоверность результатов работы** обеспечены большим объемом лабораторных и полевых экспериментов с применением современных методов. Результаты обработаны математически.

**Апробация работы.** Основные положения и результаты диссертационной работы были представлены на *Международных* и *Всероссийских* конференциях: «Студент и аграрная наука» (Уфа, 2008), «Инновационные подходы к естественно- научным исследованиям и образованию» (Казань, 2009), «Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития» (Киров, 2009), «Проблемы экологии Южного Урала» (Оренбург, 2009), «Природоохранные биотехнологии в XXI веке» (Казань, 2010), «Научные проблемы использования и охраны природных ресурсов России» (Самара, 2010), «Проблемы и перспективы изучения естественных и антропогенных экосистем Урала и прилегающих регионов» (Стерлитамак, 2010), «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2010), «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2010), «Современные проблемы экологии» (Москва, 2010), «Безопасность жизнедеятельности: проблемы и пути их решения» (Уфа, 2011).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 395 источника, в том числе 161 на иностранных языках, и приложения. Работа изложена на 217 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 рисунками и содержит 24 таблицы и 12 таблиц в приложении.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность и признательность за неоценимую помощь и поддержку моему научному руководителю проф. д.б.н. Киреевой Н.А., а также д.с.-х. наук Нурмухаметову Н.М., к.б.н. Башировой Р.М., д.б.н. Новоселовой Е.И., к.б.н. Григориади А.С. за активное участие в обсуждении результатов, и всем коллегам и соавторам публикаций.

## **Глава 1. Микробные биопрепараты для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур и восстановления биологической активности нефтезагрязненных почв (обзор литературы)**

Приведен обзор литературы о влиянии микробных биопрепаратов для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур и восстановления биологической активности нефтезагрязненных почв. Выявлена возмож-

ность применения почвенных микроорганизмов и биопрепаратов на их основе для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений. Рассмотрены биологическая активность почв, рост и развитие растений при нефтяном загрязнении и биопрепараты для рекультивации нефтезагрязненных почв. На основе критического анализа данных литературы определена методология и основные направления исследований.

## Глава 2. Объекты и методы исследований

Исследования проводили в Кармаскалинском районе республики Башкортостан в полевом зернопаропропашном севообороте опытного поля КФХ «Артемиды». Закладку и проведение опытов осуществляли по общепринятой методике (Доспехов, 1985). Почва выщелоченный чернозем (гумус- 8,7%; рН<sub>H2O</sub> – 6,1; N<sub>общ</sub>- 2510 мг/кг). Опыты проводили на площадках размером 25м<sup>2</sup> в 4-х кратной повторности. В качестве объектов исследования использовали семена и растения сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L., var. *saccharifera*., сорт Милан) и яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Жница). Семена перед посевом обрабатывали 0,001% раствором биопрепарата «Метаболит», который представляет собой природный экстракт биологически активных веществ, микромицета-ассоцианта, *Scopulariopsis acremonium* (Delacr.) Vuill., выделенного из корней трехлетней культуры облепихи (*Hippophae rhamnoides*). В контрольных вариантах опыта семена замачивали в дистиллированной воде. Через 60 суток после всходов растений сахарной свеклы и 45 суток яровой пшеницы часть опытных делянок (модельные опыты) искусственно загрязняли нефтью в концентрации 6,1/100г и затем проводили дополнительное опрыскивание биопрепаратом. Варианты опытов: 1.Контроль (без биопрепарата и нефтяного загрязнения, фоновая почва); 2.Обработка семян и растений биопрепаратом; 3. Загрязненный нефтью чернозем; 4. Обработка семян и растений биопрепаратом+ загрязнение чернозема нефтью. Агротехника выращивания сельскохозяйственных культур – общепринятая для данного региона.

Оценку биологической активности чернозема по микробиологическим и ферментативным показателям проводили под растениями (эдафосфера) и в ризосфере растений.

Агрохимические и физико-химические свойства определяли общепринятыми методами согласно руководствам (Аринушкина, 1970; Практикум..., 2001). Каталазную активность определяли газометрическим методом, активность дегидрогеназы, полифенолоксидазы и пероксидазы - колориметрическим методом, целлюлазы - аппликационным методом, липазы – титрометрическим методом (Хазиев, 2005).

Учет численности микроорганизмов в ризосфере и эдафосфере проводился общепринятыми методами посева на агаризованных питательных средах. Идентификация культур бактерий производилась, по определителям Берджи (Определитель..., 1997) и пособию для идентификации бактерий

(Добровольская и др., 1989). Для идентификации видов микромицетов использовались принятые в микологии определители (Raper, Fennel, 1965; Raper, Thom, 1968; Билай, Курбацкая, 1990; Литвинов, 1967; Watanabe, 2000). Видовые названия грибов уточнялись по пополняемым спискам опубликованных видов в базе данных «Index fungorum» ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)).

Микроскопические исследования корневой системы растений проводились на люминесцентном микроскопе марки ЛОМО Микромед-2 (Россия), степень микотрофности корней рассчитывали методом Травло (Методы исследования..., 1992).

Содержание сырого протеина в зерне, аскорбиновой кислоты и рибофлавина в листьях, активность пероксидазы и полифенолоксидазы в листьях и корешках растений определяли по методам, описанным в (Лабораторный..., 2004). Содержание сахаров в корнеплодах определяли по методу, описанному в (Исмагилов и др., 2010). Содержание бенз(а)пирена – спектрофлуориметрическим способом (Трубникова и др., 2006).

Пигменты листьев растений экстрагировали метанолом и снимали спектры поглощения на приборе UV- 2401 PC Shimadzu. Содержание остаточных нефтепродуктов в почве определяли горячей экстракцией метиленхлоридом (McGill, Rowell, 1980). Пигменты листьев растений экстрагировали метанолом и спектры поглощения снимались на приборе UV- 2401 PC Shimadzu. Тяжелые металлы в растительном сырье и почве определялись на атомно-абсорбционном спектрометре AA-6200 Shimadzu (Методика количественного..., 2005). Содержание остаточных нефтепродуктов в почве определяли горячей экстракцией метиленхлоридом (McGill, Rowell, 1980).

Экономическая эффективность рассчитывалась сравнительно-математическим методом по прямым затратам.

Математическая обработка материала проводилась с помощью пакета компьютерных программ Statistica V 6.0 и Microsoft Office 2000 для Windows.

### **Глава 3. Влияние обработки семян и растений сахарной свеклы биопрепаратом «Метаболит» на биологическую активность чернозема выщелоченного, физиологические показатели роста и продуктивность растений и устойчивость в условиях нефтяного загрязнения**

Первичным результатом воздействия нефти на почву является ухудшение ее физико-химических свойств, сопровождающееся снижением степени аэробности среды обитания растений, вызванное негативным влиянием поллютанта на водно-воздушные свойства почвы. Подтверждением вышесказанному является модификация активности оксидоредуктаз в ризосфере и эдафосфере опытных растений, связанная с изменениями в численности и активности микроорганизмов почвы.

Обработка семян сахарной свеклы, а затем дополнительное опрыскива-

ние посевов биопрепаратом, активизировало оксидоредуктазы в фоновой почве. Под посевами сахарной свеклы дегидрогеназная активность повышалась вследствие стимуляции метаболитами ассоциативного гриба процессов анаэробного дегидрирования в почве. В нефтезагрязненной почве, как в ризосфере так и под посевами, активность этого фермента при внесении биопрепарата была выше, чем в фоновой почве, что свидетельствует об интенсификации процессов распада углеводов. При загрязнении чернозема нефтью активность каталазы в ризосфере снизилась (табл.1). Низкая активность каталазы сохранилась и в нефтезагрязненной почве с внесением биопрепарата, однако, в под посевами растений она была выше, чем в почве с внесением биопрепарата.

**Таблица 1**  
**Ферментативная активность нефтезагрязненного чернозема при обработке растений сахарной свеклы биопрепаратом (130сут)**

Показатели	Варианты опытов			
	Контроль	«Метаболит»	Нефть	Нефть+ «Метаболит»
<b>Ризосфера</b>				
Каталаза, мл O <sub>2</sub> / г	3.3±0.2	4.0±0.2	2.5±0.1	2.7±0.1
Дегидрогеназа, мг формазана /10г	1.2±0.02	1.8±0.05	1.3±0.05	2.0±0.1
Пероксидаза, мг бензохинона /1г	0.27±0.01	0.33±0.01	0.40±0.02	0.35±0.01
Полифенолоксидаза, мг бензохинона /1г	0.15±0.01	0.3±0.01	0.2±0.01	0.18±0.01
K <sub>м</sub>	0.5	0.9	0.5	0.5
<b>Под посевами</b>				
Каталаза, мл O <sub>2</sub> / г	3.4±0.1	3.6±0.1	2.7±0.1	4.0±0.08
Дегидрогеназа, мг формазана /10г	1.3±0.05	1.8±0.09	1.4±0.07	2.6±0.1
Пероксидаза, мг бензохинона /1г	0.58±0.02	0.72±0.03	0,45±0.02	0.67±0.03
Полифенолоксидаза, мг бензохинона /1г	0.34±0.01	0.45±0.02	0.28±0.01	0.4±0.02
K <sub>м</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6

Под влиянием биопрепарата, наблюдалось незначительное повышение активности пероксидазы в нефтезагрязненном чернозёме (табл.1). Активность полифенолоксидазы – другой оксидоредуктазы, участвующей в процессах гумификации – также повышалась при обработке биопрепаратом во всех вариантах опыта в сравнении с фоновыми показателями. Величина коэффициента гумификации (K<sub>г</sub>, выражающая отношение активности полифе-



нооксидазы к активности пероксидазы) под посевами растений сахарной свеклы не менялась в почве опытных вариантов в сравнении с фоновой.

Загрязнение чернозема выщелоченного нефтью через 60 сут после появления всходов растений сахарной свеклы значительно снижало численность основных эколого-физиологических групп микроорганизмов под посевами этой культуры. Обработка биопрепаратом способствовала восстановлению численности микроорганизмов как в ризосфере, так и эдафосфере, что свидетельствует об интенсификации процессов круговорота азот- и углеродсодержащих соединений и улучшении питания растений под влиянием экзо-метаболитов гриба в условиях нефтяного загрязнения.

Применение биопрепарата для обработки растений способствовало увеличению валовой численности углеводородоксилирующих микроорганизмов (УОМ) на порядок, что, в свою очередь, ускоряет процессы разложения нефтяных углеводов.

Эндомикоризные грибы широко распространены в корнях большинства растений, в том числе основных сельскохозяйственных культур, к которым относится сахарная свекла. Они не только стимулируют корневое питание растений, но и улучшают фотосинтез, повышают устойчивость к стрессам, а также корневым гнилям и другим болезням.

Из результатов, приведенных в таблице 2, видно, что обработка растений сахарной свеклы биопрепаратом оказала благоприятное действие. Частота встречаемости микоризной инфекции и интенсивность микоризации коры корня в фоновом варианте опыта (без обработки препаратом и без загрязнения нефтью) составляла небольшой процент. При обработке биопрепаратом растений сахарной свеклы эти показатели увеличились более, чем в два раза. Загрязнение нефтью привело к исчезновению микоризной инфекции, в чем проявилось отрицательное действие нефтяных углеводов. Обработка биопрепаратом посевов сахарной свеклы в нефтезагрязненной почве способствовала восстановлению частоты встречаемости микоризной инфекции. Процент микоризации коры корня превзошел значения уровня фонового варианта. Можно отметить положительный эффект применения биопрепарата под посевами сахарной свеклы в нефтезагрязненной почве.

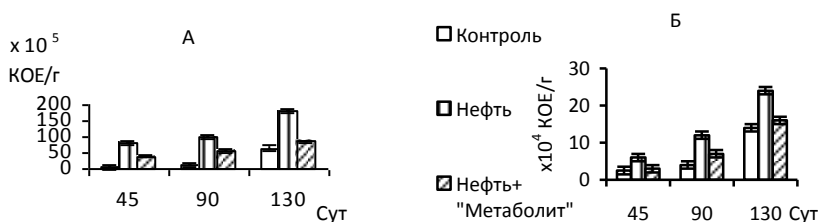
В ризосфере сахарной свеклы, выращенной на черноземе, загрязненном нефтью наблюдалось увеличение видового разнообразия микроскопических грибов. Список микромицетов, выделенных из загрязненного чернозема, увеличился за счет появления новых, ранее не обнаруженных в данной почве представителей, по-видимому, участвующих в утилизации нефти или просто устойчивых к данному типу загрязнения. Это виды *P. glabrum*, *P. restrictulosum*, *P. steckii*, *P. godlewskii*, *P. velutinum*, *F. merismoides*, *Chryso-sporium sp.* Увеличение видового состава комплекса микромицетов в ризосфере сахарной свеклы при загрязнении нефтью происходило, в основном, за счет редких и случайных видов, которые играют важную функциональную роль в процессах почвообразования (Билай и др., 1984).

Таблица 2

**Частота встречаемости микоризной инфекции и интенсивность микоризации коры корня сахарной свеклы при обработке биопрепаратом (%)**

Вариант опыта	Частота встречаемости микоризной инфекции (F%)	Интенсивность микоризации коры корня (M%)
Контроль	31,90	11,50
Контроль+ «Метаболит»	78,00	32,85
Нефть	0	0
Нефть+ «Метаболит»	36,00	24,88

При загрязнении почвы нефтью под посевами сахарной свеклы происходило значительное увеличение численности микромицетов (рис.1). Аналогичные данные получены и другими авторами, показавшими стимулирующее действие нефтяных углеводородов на рост численности микроскопических грибов в разных типах почв (Киреева и др., 2005; Хабибуллина, 2009).



**Рис.1. Численность микромицетов в ризосфере (А) и эдафосфере (Б) сахарной свеклы при загрязнении нефтью и обработке семян и растений биопрепаратом**

Обработка семян и растений сахарной свеклы биопрепаратом способствовала снижению фитотоксичности загрязненного чернозема за счет уменьшения видового разнообразия микромицетов-фитопатогенов в ризосфере, что, в конечном счете, повышало устойчивость растений к условиям нефтяного стресса.

В почве, загрязненной нефтью, урожайность корнеплодов была ниже в сравнении с фоновым вариантом опыта (табл. 3). При этом снизилось также и содержание сахара в них. Обработка «Метаболитом» растений, произрастающих на нефтезагрязненной почве, так же способствовала росту листьев, увеличению количества проводящих пучков и, в конечном счете, восстановлению сахаристости и урожайности корнеплодов. В этом проявилось стрес-

спротекторное действие биопрепарата, полученного на основе экзометаболитов ассоциативного микромицета.

Внесение нефти в чернозем вызывало угнетение процессов фотосинтеза в листьях свеклы, в первую очередь хлорофилла а (рис.2). Не исключено, что основной причиной снижения содержания хлорофилла в листьях являлось токсическое действие серы и ухудшение воздушного режима почвы.

**Таблица 3**

**Урожайность корнеплодов и сахаристость при обработке семян и растений биопрепаратом «Метаболит» и загрязнении чернозема нефтью**

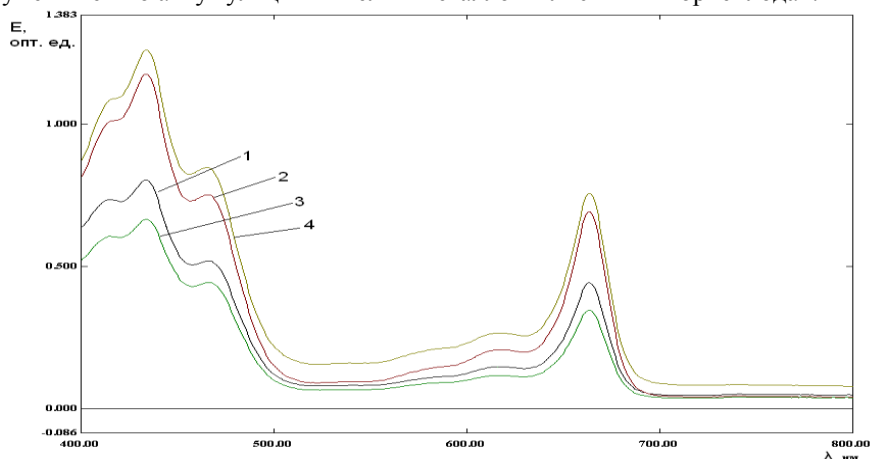
Варианты опытов	Урожайность корнеплодов, т/га	% к контролю	Сахаристость, %	% к контролю	Выход сахара, т/га	% к контролю
2007г						
Контроль	34.0±1.7	-	16.0±0.8	-	5.4±0.22	-
«Метаболит»	36.0±1.7	106±5.1	16.5±0.8	103±5.0	6.1±0.3	113±5.1
2008г						
Контроль	35.0±0.7	-	16.8±0.8	-	5.9±0.2	-
«Метаболит»	36.2±0.7	103±5.0	17.3±0.7	103±5.0	6.3±0.3	106±5.1
2009г						
Контроль	34.0±1.7	-	16.0±0.8	-	5.4±0.2	-
«Метаболит»	37.0±1.8	109±5.1	17.1±0.8	109±5.1	6.3±0.3	106±5.1
Нефть	32.0±1.6	94±4.3	15.2±0.6	95±4.2	4.9±0.2	91±4.5
Нефть+ «Метаболит»	36.3±1.5	103±5.0	16.2±0.6	101±5.0	5.9±0.2	109±5.1
2010г						
Контроль	19.0±1.6	-	15.5±0.7	-	5.0±0.2	-
«Метаболит»	20.8±1.5	109±5.1	16.7±0.7	108±5.0	5.6±0.2	112±5.5
Нефть	17.0±1.4	89±4.5	14.8±0.7	95.5±4.5	4.5±0.2	90±4.5
Нефть+ «Метаболит»	18.5±1.5	97±5.0	16.2±0.6	105±5.0	5.5±0.2	110±5.3

Критерием эффективности детоксицирующей активности биопрепарата служило повышение содержания хлорофилла в листьях сахарной свеклы, поскольку рост растения и его биологическая продуктивность – результат фотосинтетической деятельности листьев.

При загрязнении почвы нефтью увеличилось содержание аскорбиновой кислоты как в листьях, так и в корнеплодах, что свидетельствует об интенсификации окислительно-восстановительных процессов и нейтрализации растениями поллютантов. При обработке биопрепаратом эта тенденция поддержки растения в неблагоприятных экологических условиях сохранилась.

Под растениями сахарной свеклы происходило ускорение снижения содержания остаточных углеводов в черноземе. Детоксицирующий эффект проявился в том, что при обработке семян и растений биопрепаратом «Метаболит» этот процесс ускорился почти в 2 раза.

При загрязнении почвы нефтью происходило накопление бенз(а)пирена (БП) как в корнеплодах, так и листьях сахарной свеклы, однако эти значения не превышали региональных фоновых показателей. Обработка семян и растений сахарной свеклы биопрепаратом «Метаболит» способствовала уменьшению аккумуляции тяжелых металлов в листьях и корнеплодах.



**Рис.2. Спектральные характеристики экстрактов пигментов листьев сахарной свеклы при совместном действии нефти и метаболита. 1. Контроль (без биопрепаратов и нефтяного загрязнения, фоновая почва); 2. Обработка семян и растений сахарной свеклы биопрепаратом; 3. Загрязненная нефтью почва; 4. Обработка семян и растений биопрепаратом + загрязнение почвы нефтью.**

Расчеты экономической эффективности показали, что применение биопрепарата «Метаболит» для обработки семян и растений сахарной свеклы за 2007- 2010 гг. экономически выгодно (условная прибыль составила 2163,2 руб/га).

#### **Глава 4. Влияние обработки семян и растений яровой пшеницы биопрепаратом «Метаболит» на биологическую активность чернозема выщелоченного, физиологические показатели роста и продуктивность растений, и устойчивость в условиях нефтяного загрязнения**

Загрязнение нефтью почвы вызвало существенное изменение структуры микробоценозов в ризосфере и под посевами яровой пшеницы (табл. 4). Обработка семян и посевов яровой пшеницы биопрепаратом «Метаболит» спо-

Таблица 4

**Численность микроорганизмов в ризосфере и под посевами при  
обработке растений яровой пшеницы биопрепаратом и загрязнении  
нефтью**

Группы микро- организмов	Фазы развития растений	Варианты опытов			
		Кон- троль	«Метабо- лит»	Нефть	Нефть+ «Ме- таболит»
ризосфера					
Целлюлозораз- рушающие, ×10 <sup>4</sup> КОЕ/г	1	0.5±0.02	0.8±0.04	-	-
	2	1.2±0.06	2.2±0.1	-	-
	3	9.5±0.4	17±0.84	0.05±0.02	1.0±0.04
	4	6.6±0.3	12±0.5	0.1±0.005	3.0±0.1
Общая числен- ность гетеро- трофов, ×10 <sup>6</sup> КОЕ/г	1	3.1±0.1	36±1.8	-	-
	2	88±4.0	101±5.0	-	-
	3	1200±60	45000±2230	9500±420	14000±680
	4	405±20	12000±580	13200±600	22000±1100
Актинобакте- рии, ×10 <sup>6</sup> КОЕ/г	1	0.9±0.04	7.6±0.4	-	-
	2	14.4±0.7	16.0±0.78	-	-
	3	70.1±3.5	95±4.8	12.0±0.6	32±1.4
	4	26±1.1	50±2.2	10±0.5	21±1.0
Бациллы, ×10 <sup>4</sup> КОЕ/г	1	2.1±0.1	4.8±0.2	-	-
	2	10.6±0.5	22±1.0	-	-
	3	41±2.1	68±3.0	95±4.1	170±8.1
	4	20±1.0	41±2.0	72±3.0	135±6.0
под посевами растений					
Целлюлозораз- рушаю- щие, ×10 <sup>4</sup> КОЕ/г	1	2.4±0.1	4.2±0.2	-	-
	2	10.0±0.5	24.6±1.0	-	-
	3	27±1.3	52±2.1	0.01±0.0001	2±0.1
	4	14±0.6	33±1.4	0.02±0.001	1±0.05
Общая числен- ность гетеро- трофов, ×10 <sup>5</sup> КОЕ/г	1	5.4±0.2	12.2±6.1	-	-
	2	64±3.0	160±7.8	-	-
	3	800±40	1200±60	900±40	1500±75
	4	280±14	600±30	700±30	2200±100
Актинобакте- рии, ×10 <sup>5</sup> КОЕ/г	1	0.7±0.03	1.8±0.07	-	-
	2	11±0.5	25±1.1	-	-
	3	85.3±4.0	130±6.1	32±1.2	47±2.0
	4	38.1±1.5	71±3.0	12±0.5	30±
Бациллы, ×10 <sup>3</sup> КОЕ/г	1	3.8±0.1	5.6±0.2	-	-
	2	16.1±0.8	20.8±0.9	-	-
	3	52±2.0	120±5.9	48±2.0	140±7.0
	4	38±1.5	70±3.3	35±1.5	110±5.0

*Примечание:* 1 - 10 суток; 2 - 20 суток; 3 - фаза колошения; 4 - сбор урожая.

собствовала активизации микробиологических процессов в ризосфере растений пшеницы при нефтяном загрязнении чернозема. Численность основных эколого-трофических групп микроорганизмов в ризосфере и под посевами яровой пшеницы при обработке биопрепаратом восстанавливалась и превосходила фоновые значения. Численность УОМ – основных деструкторов нефти – в ризосфере растений пшеницы при обработке семян и растений в условиях занефтенности почв возрастала, в основном в 1,5 – 2 раза, то есть не так значительно, как численность других групп микроорганизмов (табл.5).

Таблица 5

**Численность УОМ в ризосфере яровой пшеницы, выращенной на нефтезагрязненной почве и при рекультивации (КОЕ/г почвы)**

Варианты	Фаза роста пшеницы	
	Фаза колошения	Сбор урожая
без обработки «Метаболитом»		
Контроль	$(5,0 \pm 0,2)10^3$	$(2,0 \pm 0,1)10^3$
Нефть	$(12 \pm 0,3)10^7$	$(5 \pm 0,2)10^7$
Обработка «Метаболитом»		
Контроль	$(9,0 \pm 0,4)10^3$	$(10 \pm 0,5)10^3$
Нефть	$(80 \pm 3,3)10^7$	$(50 \pm 2,2)10^7$

В таблице 6 представлены виды грибов, выделенные из ризосферы пшеницы в фазу колошения. Нефтяное загрязнение меняло соотношения встречаемости грибов в течение всего периода наблюдения. В ризосфере пшеницы преобладали представители двух родов *Aspergillus* и *Penicillium*, встречались виды родов *Fusarium*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Humicola*, *Rhizopus*, *Verticillium*. Видовое разнообразие микромицетов в ризосфере растений пшеницы в ходе сукцессии снижалось. В первый период после постановки опыта в ризосфере пшеницы присутствовали многочисленные случайные и редкие виды (*A. nidulans*, *Cladosporium sp.*, *A. sydowii* и др.).

Видами, чувствительными к воздействию нефти в почве в ризосфере пшеницы, можно считать грибы *Chaetomium sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Trichoderma viride*, *Rhizopus sp.* и представителей рода *Penicillium*: *lanosum*, *martensii*, *restrictum*, *simplicissimum*. Большое количество видов грибов, по нашему мнению, можно отнести к устойчивым видам: *Aspergillus fumigates*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *Penicillium canescens*, *Verticillium sp.* В ризосфере пшеницы, загрязненной нефтью, возрастало относительное содержание представителей родов *Fusarium* и *Verticillium*. Последние, очевидно, попали в почву с семенами растений и получили возможность для благоприятного развития при нефтяном стрессе и ослабленности растений в связи с этими условиями.

Загрязнение чернозема нефтью отрицательно сказалась на росте и развитии растений как в фазу кущения, так и в фазу колошения (табл. 7). Обработка семян и посевов яровой пшеницы биопрепаратом оказала антистрессовый эффект для растений.

**Таблица 6**

**Структура комплекса микромицетов ризосферы растений пшеницы (фаза колошения), выращенных на нефтезагрязненной почве (частота встречаемости, %)**

Виды	Контроль	Нефть
<i>Alternaria elegans</i> E.G.Simmons et J.C.David	-	40
<i>Aspergillus caespitosus</i> , Raper et Thom.	-	8
<i>A.fumigatus</i> Fresen.	60	60
<i>A.niger</i> Tiegh.	30	58
<i>A. flavus</i> var. <i>oryzae</i> (Ahlb.) Kurtzman, M.J. Smiley, Robnett & Wicklow	20	54
<i>A.restrictus</i> G.Sm.	15	30
<i>A.terreus</i> Thom.	25	80
<i>A.ustus</i> (Bainier) Thom et Church	-	55
<i>A.wentii</i> Wehmer	-	64
<i>Chaetomium</i> sp.	5	-
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.	38	80
<i>F.oxysporum</i> Schltdl.:Fr.	80	100
<i>Fusarium</i> sp. Henn.	33	75
<i>Humicola</i> sp. Siddique	33	30
<i>Mucor</i> sp. Oudem.	33	15
<i>Paecilomyces</i> sp. Udagawa & Shoji Suzuki	33	-
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx	75	75
<i>P.casei</i> Staub	33	20
<i>P.lanosum</i> Westling	33	-
<i>P.aurantiogriseum</i> Dierckx	33	-
<i>P.restrictum</i> Gilman and Abbott	10	-
<i>P.roqueforti</i> Thom	33	26
<i>P.simplicissimum</i> (Oudem.) Thom	33	5
<i>P.verrucosum</i> Dierckx	60	30
<i>Rhizopus</i> sp.	33	11
<i>Trichoderma viride</i> Pers.: Fr.	33	-
<i>Verticillium</i> sp.	33	60

Известно, что фотосинтетический аппарат высших растений обладает широким диапазоном приспособительных реакций к тем условиям среды, в которых они формируются (Васильева и др., 2003). Растения яровой пшеницы, выращенные на загрязненном нефтью черноземе, характеризовались

более низким содержанием хлорофилла в листьях. Обработка семян и растений биопрепаратом не влияло на оптические характеристики пигментов листьев яровой пшеницы.

Таблица 7

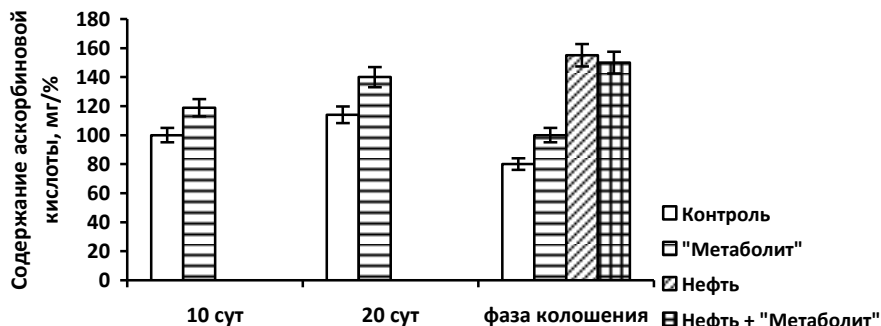
**Влияние обработки биопрепаратом на рост и развитие яровой пшеницы на черноземе выщелоченном, загрязненном нефтью (фаза кущения)**

Варианты опыта	Показатели				
	Высота растений, см	Количество листьев, шт	Количество придаточных корней, шт	Средняя длина придаточных корней, см	
Контроль	1	16,9±0,34	4,13±0,06	3,10±0,04	3,04±0,08
	2	20,5±0,21	4,83±0,09	3,33±0,03	2,98±0,18
Нефть	1	10,4±0,98	2,55±0,09	2,10±0,015	2,40±0,28
	2	12,6±0,87	2,93±0,08	2,20±0,08	2,48±0,11
НСР <sub>0,95</sub>		1,56	0,32	0,24	0,07

*Примечание:* 1 – без обработки; 2 – с внесением «Метаболита»; в таблицах приведены НСР для вариантов опытов для соответствующего признака.

При загрязнении почвы нефтью отмечен достоверный рост содержания аскорбиновой кислоты, что свидетельствует об участии аскорбиновой кислоты в механизмах адаптации растений к условиям техногенеза.

При обработке семян растений пшеницы биопрепаратом Метаболит, содержание аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы, выращенных на фоновых почвах, увеличилось независимо от фазы развития растений (рис.3).



**Рис.3. Содержание аскорбиновой кислоты в листьях растений яровой пшеницы**

В листьях растений пшеницы в фазе колошения содержание окисленной формы рибофлавина было меньше и при загрязнении почвы нефтью значе-

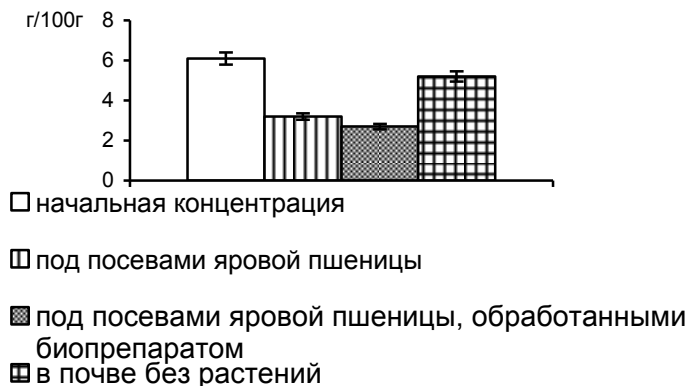


ния этого показателя увеличивались в 1,5 – 2 раза. При обработке семян и растений пшеницы биопрепаратом «Метаболит» рост и развитие растений пшеницы, происходили более интенсивно, чем в нефтезагрязненных почвах. В листьях растений пшеницы, выращенных на незагрязненных почвах, обработанных биопрепаратом, содержание обеих форм рибофлавина превышало таковой показатель у растений, выращенных на незагрязненном черноземе без обработки семян и растений.

Под действием нефти происходило достоверное увеличение активности пероксидаз в листьях растений яровой пшеницы 1,5 раза. В листьях пшеницы, обработанной биопрепаратом и выращенной на нефтезагрязненном черноземе, активность пероксидаз сохранялась высокой. Обработка биопрепаратом «Метаболит» семян и посевов яровой пшеницы повышала активность и полифенолоксидаз в листьях.

Загрязнение нефтью способно значительно снизить урожайность пшеницы. При сравнении урожайности яровой пшеницы в условиях нефтяного загрязнения и при обработке биопрепаратом «Метаболит» образцов выявлено достоверное увеличение урожайности яровой пшеницы ( $p=0,95$ ) под воздействием экзометаболитов ассоциативного гриба. Однако снижение урожайности яровой пшеницы при загрязнении чернозема нефтью было настолько велико, что его полного восстановления под действием биопрепарата «Метаболит» не происходило.

Под растениями яровой пшеницы содержание остаточных нефтепродуктов к концу вегетации снизилось почти в 2 раза, в то время как в почве без растений на 15%. Обработка семян и растений яровой пшеницы биопрепаратом еще более ускорило процесс деструкции поллютанта, что свидетельствует о детоксицирующей способности экзометаболитов гриба-ассоцианта (рис. 4).



**Рис. 4. Содержание остаточных нефтепродуктов в черноземе под посевами яровой пшеницы**

На черноземе, загрязненном нефтью, содержание БП в растениях яровой пшеницы достигало 197,1 нг/г, что почти в 3 раза превышало фоновые значения. Растения яровой пшеницы, выращенные из семян, обработанных биопрепаратом, содержали значительно меньшее количество БП (102 нг/г). Это, очевидно, связано с тем, что экзометаболиты ассоциативного гриба стимулируют развитие в ризосфере яровой пшеницы микроорганизмов-деструкторов БП.

Расчеты экономической эффективности показали, что применение биопрепарата «Метаболит» для обработки семян и растений яровой пшеницы экономически выгодно (условная прибыль составила 1117,05 руб/га)

### РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

В условиях южной лесостепи Республики Башкортостан для повышения биологической активности почвы, активизации микробиологических процессов, а также повышения урожайности сахарной свеклы и яровой пшеницы, предшественниками которых являются озимая рожь и сахарная свекла с высоким агрофоном, рекомендуется применять для предпосевной обработки семян и посевов 0,001% раствор биопрепарата «Метаболит».

Для выращивания сельскохозяйственных культур при загрязнении почвы нефтью целесообразно проводить обработку посевов 0,001% раствором биопрепарата «Метаболит».

### ВЫВОДЫ

1. Загрязнение чернозема выщелоченного нефтью угнетает микробиологические и ферментативные процессы под посевами, тормозит рост и развитие, значительно снижает продуктивность сахарной свеклы и яровой пшеницы.

2. Предпосевная обработка семян сахарной свеклы и яровой пшеницы биопрепаратом «Метаболит», полученным на основе микромицета-ассоцианта облепихи *Scopulariopsis acremonium*, активизирует микробиологические и окислительно-восстановительные процессы, стимулирует интенсивность микоризации корней. Экзометаболиты ассоциативного микромицета, входящие в состав биопрепарата, обладают фунгицидным действием, что способствует снижению численности и видового разнообразия микроскопических грибов-фитопатогенов, и фитотоксичности чернозема и улучшению фитосанитарного состояния посевов.

3. Биопрепарат «Метаболит» обладает антистрессовым эффектом для сахарной свеклы и яровой пшеницы, что проявляется в торможении процессов высыхания листьев и сохранении ассимиляционной поверхности в условиях нефтяного загрязнения. Обработка семян активизирует защитные механизмы, увеличивая содержание фотосинтезирующих пигментов и аскорбиновой кислоты. Протекторное действие биопрепарата в условиях нефтяного загрязнения способствует сохранению габитуса растений, и увеличе-

нию продуктивности сахарной свеклы на 10-11,5%, а яровой пшеницы на 16,5-17%.

4. Биопрепарат «Метаболит» оказывает детоксицирующий эффект, что проявляется в увеличении на один-два порядка численности УОМ, ответственных за деградации углеводов под посевами. К концу вегетационного сезона под посевами сахарной свеклы процесс разложения углеводов ускорился в 2 раза, а яровой пшеницы в 1,5.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Багаутдинова Г.Г.**, Нурмухаметов Н.М., Киреева Н.А. Биологическая активность почв и продуктивность сахарной свеклы при обработке биопрепаратом // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. №6. С. 540-542.

2. **Багаутдинова Г.Г.**, Нурмухаметов Н.М., Киреева Н.А., Новоселова Е.И. Использование биопрепарата Метаболит для восстановления биологической активности нефтезагрязненного чернозема // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 10. С. 528-529.

3. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Григориади А.С., Новоселова Е.И., **Багаутдинова Г.Г.**, Лобастова Е.Ю. Эффективность применения биопрепаратов для восстановления плодородия техногенно-загрязненных почв // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2010. Т.12. №1(4). С. 1023-1026.

4. Киреева Н.А., **Багаутдинова Г.Г.**, Нурмухаметов Н.М. Урожайность яровой пшеницы и биологическая активность чернозема выщелоченного при обработке биопрепаратом // Проблемы агрохимии и экологии. 2011. №1. С. 28-32.

5. Киреева Н.А., Баширова Р.М., **Багаутдинова Г.Г.**, Гуськова Н.С. Детоксицирующий и стресспротекторный эффект биопрепарата Метаболит при загрязнении нефтью посевов сахарной свеклы // Агрохимия. 2011. №6. С. 55-60.

6. **Зинатуллина Г.Г.** Влияние Метаболита и микроэлемента меди на интенсивность разложения клетчатки под сахарной свеклой // Студент и аграрная наука. Матер. II Всеросс. студенческой конф. Уфа: БГАУ. 2008. Ч. I. С. 28.

7. Киреева Н.А., **Багаутдинова Г.Г.**, Новоселова Е.И. Оценка эффективности восстановления плодородия нефтезагрязненного чернозема по показателям биологической активности // Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития. Матер. Всеросс. научно-практич. конф. Киров. 2009. Выпуск VII. Часть 2. С. 8-10.

8. Нурмухаметов Н.М., Киреева Н.А., **Багаутдинова Г.Г.** Изучение возможности использования метаболитов эндомикоризных грибов как экологически чистого метода повышения продуктивности сельскохозяйственных культур // Башкирский экологический вестник. 2010. №1. С. 43-45.

9. **Багаутдинова Г.Г.**, Киреева Н.А., Новоселова Е.И. Влияние экологически безопасного биопрепарата на биологическую активность и продуктивность нефтезагрязненных почв // Природоохранные биотехнологии в XXI веке. Сборник науч. трудов. Казань: ТГГПУ. 2010. С. 58-61.
10. **Багаутдинова Г.Г.**, Киреева Н.А. Применение биопрепарата Метаболит для восстановления продуктивности нефтезагрязненной почвы // Проблемы и перспективы изучения естественных экосистем Урала и прилегающих регионов. Матер. Всеросс. конф. Стерлитамак. 2010. С. 146-150.
11. Киреева Н.А., **Багаутдинова Г.Г.**, Баширова Р.М. Применение биопрепаратов для адаптации растений к условиям нефтяного загрязнения // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды. Матер. III Междун. конф. Челябинск. 2010. С. 74-76.
12. **Багаутдинова Г.Г.** Биопрепараты на основе микромицетов- симбионтов для активизации микробиологических процессов и повышения продуктивности сельскохозяйственных растений// Актуальные аспекты современной микробиологии. Тезисы докл. VI Молодежной школы -конференция с международным участием. Москва. 2010. С. 126-127.
13. Киреева Н.А., Григориади А.С., **Багаутдинова Г.Г.**, Гареева А.Р. Микробные биопрепараты для восстановления плодородия почв // Современные проблемы экологии. Сборник. матер. Междун. н-практич. конф. Москва. 2010. С. 39-42.
14. Киреева Н.А., **Багаутдинова Г.Г.**, Лобастова Е.Ю., Григориади А.С. Микробные препараты в земледелии и улучшении состояния окружающей среды //Безопасность жизнедеятельности: современные проблемы и пути их решения. Сборник материалов II Междунар. научно-практ. конф. - Уфа: Изд-во "Здравоохранение Башкортостана". 2011. С. 158-163.