

МИКРООРГАНИЗМЫ ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ

Алещенкова З.М., Ананьева И.Н., Клишевич Н.Г., Чиндарева М.А.

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск,
microbio@mbio.bas-net.by*

Техногенному загрязнению почвы часто подвергаются в зонах влияния крупных промышленных предприятий, транспортных магистралей, в местах добычи нефти, калийных удобрений и др. Загрязнение отрицательно сказывается на биологической активности почвы и растениях, что в конечном итоге приводит к выводу загрязненных почв из сельскохозяйственного оборота. С целью минимизации негативного воздействия техногенных факторов на окружающую среду активно используются биотехнологии. В последние годы для рекультивации загрязненных экосистем широко применяют микроорганизмы и растения [1, 2]. Используемые микроорганизмы увеличивают обеспеченность растений элементами минерального питания и физиологически активными веществами, уменьшают ингибирующее действие различных фитопатогенов, стимулируя рост растений в условиях загрязнения. Аргументами в пользу их применения является полная безопасность для человека и окружающей среды, исключение экологических рисков, возможность снижения доз внесения агрохимикатов и минеральных удобрений.

Разработка экологически безопасных и экономически обоснованных методов, направленных на восстановление биологической активности загрязненных и деградированных сельскохозяйственных земель, является крайне важной для Беларуси. Именно поэтому, растительно-микробные системы, устойчивые к воздействию абиотических стресс-факторов, востребованы для развития фиторемедиационных технологий восстановления деградированных почв, например, засоленных и загрязненных нефтью почв, площадь которых в мире постоянно увеличивается [3, 4].

Проблема засоления почв особенно остро в Беларуси стоит в промышленном Солигорском районе. Из почвы, отобранной в районе действия выбросов ОАО «Беларуськалий», был выделен галотолератный азотфиксирующий бактериальный изолят Сб-1, способный расти на среде в присутствии хлорида натрия в концентрации 10% и стимулировать рост и развитие растений. Изучение физиолого-биохимических свойств изолята показало, что он – грамположительный, оксидазоотрицательный и каталазоположительный, образует кислоту из маннита, мальтозы, трегалозы, сахарозы, и не образует из целлобиозы, ксилозы, арабинозы, инозита. Способен расти на среде, содержащий в качестве источника углерода и азота ацетоамид, орнитин, лизин, но не способен расти на среде, содержащей аргинин. Обладает уреазной, α -галактозидазной, β -галактозидазной, γ -глутамилтрансферазной,

β -глюкозидазной активностями, не продуцирует фосфатазу, лейцин-ариламидазу, аланин-ариламидазу. Изолят Сб-1 обладает азотфиксирующей активностью (222,4 нМ этилена/флакон за трое суток) и ростстимулирующей активностью, обусловленной синтезом индолил-3-уксусной кислоты (67,3 мкг/мл), что может обуславливать пролонгированный ростстимулирующий эффект при использовании изолята при фиторемедиации засоленной почвы. По результатам проведенного анализа последовательности нуклеотидов вариабельных участков генов, кодирующих 16S рРНК, установлено, что тестируемый изолят Сб-1 наиболее близок к бактериям рода *Rhodococcus* и практически идентичен штаммам *Rhodococcus jostii*.

В связи с тем, что для фиторемедиации загрязненных экосистем широко используют бобовые травы, была проведена оценка влияния галотолерантного штамма *Rhodococcus jostii* Сб-1 на рост и развитие лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus*). В модельных экспериментах при выращивании лядвенца в условиях засоления установлено, что обработка семян и интродукция галотолерантных азотфиксирующих бактерий в ризосферу лядвенца оказывает стимулирующий эффект на прорастание семян и длину проростков. В условиях засоления хлоридом натрия в концентрации от 1 до 5% всхожесть инокулированных семян выше на 11- 42%, а длина проростков – на 12- 22%, соответственно, по сравнению с вариантом без инокуляции. В вариантах с обработкой семян *Rhodococcus jostii* Сб-1 отмечается увеличение сырого веса проростков на 12-22% по отношению к контролю.

Эффективной стратегией стимуляции роста растений в условиях загрязнения является использование не одного штамма в качестве инокулянта, а консорциума микроорганизмов, каждый из которых несет полезные для растения свойства.

При оценке потенциала использования микробно-растительного взаимодействия для фиторемедиации загрязненной нефтью почвы учитывалась эффективность стимуляции роста растений, семена которых инокулировали микроорганизмами-деструкторами нефти. Микроорганизмы, способные к деструкции нефти, были выделены из образцов почвы, загрязненной при добыче нефти в Гомельской области. Изолят БП1.1 – грамположительный, растет в присутствии 7% NaCl, образует кислоту из глюкозы, маннозы, трегалозы, маннита. Желатин разжижает, гидролизует крахмал. Не образует аммиак, индол, сероводород. Продуцирует β -галактозидазу, α -галактозидазу, α -глюкозидазу, тирозин-ариламидазу, глицин-ариламидазу, β -ксилозидазу, индолил-3-уксусную кислоту в количестве 7,2 мкг/мл. На основании физиолого-биохимических свойств, полученных с помощью анализатора Vitek 2 Compact («Biomérieux»), изолят отнесен к роду *Bacillus*. Изолят БП1.2 – грамположительный, каталазоположительный, оксидазоотрицательный, растет в присутствии 10% NaCl, образует колонии оранжево-красного цвета, желатин не разжижает, крахмал не гидролизует, но разлагает казеин, ксантин и тирозин.

Образует кислоту из сахарозы, рибозы, маннита и ксилозы, но не из арабинозы, галактозы, и рамнозы. Усваивает натриевые соли органических кислот: лимонной, пропионовой, бензойной, яблочной, но не щавелевой. На основании биохимических свойств и данных VITEK®MS изолят идентифицирован как *Gordonia alkanivorans*. Идентификация изолята БП1.2 на основании анализа последовательности гена 16S рРНК подтвердила его таксономическую принадлежность.

Наблюдение за разрушением нефти в концентрации 0,1% в дерново-подзолистой почве в течение 4-х месяцев показало ускорение разложения ее под действием консорциума интродуцированных микроорганизмов-деструкторов *Bacillus sp.* БП1.1 и *Gordonia alkanivorans* БП1.2 на 29,3%.

В модельных экспериментах изучали ростстимулирующее действие исследуемых бактерий-деструкторов нефти на рост и развитие растений кресс-салата (*Lepidium sativum*) в условиях загрязнения белорусской нефтью, отличающейся более высокой вязкостью. Инокуляция семян кресс-салата штаммом *Bacillus sp.* БП1.1 обеспечивает в присутствии нефтяного загрязнения в концентрации 0,1% ускорение всхожести семян, увеличение длины проростков и сухой массы в 1,9; 1,4 и 1,6 раз, соответственно, по сравнению с контролем без инокуляции. Штамм *Gordonia alkanivorans* БП1.2 стимулирует всхожесть семян в 1,4 раза, обеспечивает увеличение длины проростков в 1,2 раза, а сухой массы в 1,5 раза. В процессе использования для инокуляции семян консорциума бактерий-деструкторов нефти отмечается усиление ростстимулирующих свойств в условиях загрязнения. Отмечается ускорение всхожести семян, увеличение длины проростков и сухой массы в 2,0; 1,5 и 1,8 раз соответственно.

Таким образом, штаммы *Rhodococcus jostii* Сб-1, *Bacillus sp.* БП1.1 и *Gordonia alkanivorans* БП1.2 перспективны для использования с целью стимуляции роста и развития растений в условиях загрязнения.

Литература

1. Тихонович И.А. Микробиологические аспекты восстановления техногенно загрязненных почв и повышения качества сельскохозяйственной продукции // Достижения науки и техники АПК. 2002. №10. С.8-11.
2. Коршунова Т.Ю. и др. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т.55. №4. С.338-349.
3. Киреева Н. А., Водопьянов В.В. Мониторинг роста и развития растений, используемых для фиторемедиации нефтезагрязненных почв // Экология и промышленность России. 2007. №9. С.46-47.
4. Назаров А.В., Илларионов С.А. Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации // Биотехнология. 2005. № 5. С. 54-62.