

УДК 631.46 : 631.8

© Н. А. Куреева,¹ Г. Ф. Рафикова,¹ А. С. Григориади,¹
Н. Ф. Галимзянова,² О. Н. Логинов²

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА АЗОЛЕН НА КОМПЛЕКС МИКРОМИЦЕТОВ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ

KIREEVA N. A., RAFIKOVA G. F., GRIGORIADI A. S., GALIMZYANOVA N. F.,
LOGINOV O. N. INFLUENCE OF THE BIOPREPARATE AZOLEN
ON THE COMPLEX OF MYCROMYCETES FROM OIL POLLUTED GRAY FOREST SOIL

Современные технологии добычи, транспортировки и переработки нефти не исключают возможности аварийных разливов, при которых нефть и продукты ее переработки попадают в окружающую среду. Загрязняя почву, углеводороды оказывают существенное негативное влияние на весь комплекс ее свойств. Современные подходы биоремедиации нефтезагрязненных почв основываются на двух основных подходах: биостимуляции, представляющей собой комплекс мер, направленных на активизацию жизнедеятельности аборигенных углеводородоокисляющих микроорганизмов, и биодополнении, при котором в загрязненную почву вносят специализированные штаммы микроорганизмов, способные утилизировать конкретный загрязнитель. Использование биопрепаратов для оптимизации условий протекания процессов самоочищения нефтезагрязненной почвы способно ускорить утилизацию нефти, не нанося при этом дополнительного ущерба нарушенной экосистеме.

Скорость минерализации органических соединений во многом определяется соотношением С и N. Избыток углеродсодержащих соединений, обусловленный загрязнением почвы нефтью, резко изменяет это соотношение. Некоторые свободноживущие азотфиксирующие бактерии способны усваивать углеводороды нефти и фиксировать азот при их использовании, а также стимулировать рост других углеводородоокисляющих микроорганизмов (Градова и др., 2003; Муратова и др., 2005). Они могут утилизировать широкий спектр органических субстратов, синтезировать биологически активные вещества, стимулирующие рост ризосферных микроорганизмов и угнетающие развитие некоторых фитопатогенных грибов. Однако внесение в почву биопрепаратов без достаточно аргументированных оснований может провоцировать непредсказуемые изменения микробоценозов, которые чреваты отрицательными последствиями. Использование биопрепаратов на основе азотобактера для биоремедиации нефтезагрязненных почв делает актуальным изучение их влияния на микробиоту, в том числе и микроскопические грибы.

Целью данной работы является изучение изменений комплекса микромицетов нефтезагрязненной серой лесной почвы при ее рекультивации с использованием биодобавки Азолен.

¹ Башкирский государственный университет.

² Институт биологии УНЦ РАН, г. Уфа.

Материал и методы

Исследования проводили в 2005—2007 гг. в условиях модельного эксперимента, используя образцы серой лесной почвы (гумус — 3.80—5.28 %, $pH_{\text{водный}}$ — 6.1, $N_{\text{общ.}}$ — 2507 мг/кг), не загрязненной и загрязненной нефтью в разных концентрациях (1, 4 и 8 % от массы) и подвергнутой биоремедиации. Почву (5 кг) помещали в сосуды и увлажняли до 60 % от общей влагоемкости. Для оптимизации водно-воздушного режима осуществляли регулярное рыхление и полив почвы. Для биоремедиации в сосуды с почвой вносили биопрепарат Азолен (титр микроорганизмов биопрепарата — 10^6 КОЕ/мл). Азолен — биоудобрение комплексного действия на основе штамма *Azotobacter vinelandii* ИБ 4, разработанное в Институте биологии УНЦ РАН (Логинов и др., 2005). Микроорганизмы, входящие в состав биопрепарата, обладают способностью фиксировать атмосферный азот (активность нитрогеназы — 0.0679 мг N_2 /мл/г), синтезировать стимуляторы роста растений (цитокинины и ауксины), проявляют антагонизм к фитопатогенным грибам. Азолен увеличивал степень биодеструкции углеводородов нефти до 25 % (Биккинина, 2007). Для оценки влияния интродукции бактерий биопрепарата на комплекс микроорганизмов серой лесной почвы в один из вариантов опыта вносили Азолен без загрязнения нефтью. Контролем служила почва без добавления нефти и биопрепарата. Образцы анализировали через 3, 30, 60, 120 суток. Повторность опыта трехкратная.

Выделение и количественный учет микроорганизмов проводили по общепринятой методике посева почвенной суспензии на плотные агаризованные среды: микромицетов — на подкисленную среду Чапека; численность азотфиксаторов и олигонитрофилов учитывали методом обрастания комочков почвы на среде Эшби. Для количественного учета углеводородоокисляющих микроорганизмов (УОМ) использовали метод предельных разведений на жидкой среде Ворошиловой—Диановой с нефтью в качестве единственного источника углерода (Методы..., 1991). Посевы проводили в 6-кратной повторности. Идентификацию видов микромицетов осуществляли по определителям (Raper, Fennell, 1965; Raper, Thom, 1968; Билай, Коваль, 1988; Watanabe, 2000; Саттон и др., 2001). Видовые названия грибов уточняли по пополняемым спискам опубликованных видов в базе данных «Species fungorum» (www.speciesfungorum.org). Для установления типичных видов использовали показатели пространственной и временной частоты встречаемости видов (Методы..., 1991). При расчетах индекса Шеннона и коэффициента Сёренсена—Чекановского учитывали только типичные виды. Фитотоксичность почвы оценивали методом почвенных пластинок по степени ингибирования прорастания семян редиса (*Raphanus sativum*) сорта Красный с белым кончиком (Методы..., 1991). Содержание остаточных нефтепродуктов определяли горячей экстракцией метиленхлоридом (McGill, Rowell, 1980). Статистическую обработку данных осуществляли с применением программы Excel.

Результаты и обсуждение

Эффективность биопрепарата зависит от способности интродуцированных микроорганизмов поддерживать свою численность определенный промежуток времени на уровне, достаточном для проявления их активности. Внесение Азолена привело к увеличению относительной плотности олигонитрофильных и азотфиксирующих микроорганизмов в серой лесной почве (табл. 1). Максимальное развитие этой группы бактерий выявлено в незагрязненной почве на 30-е сутки эксперимента. В вариантах с внесением Азолена в нефтезагрязненную почву плотность олигонитрофилов также увеличивалась (30—60-е сутки), однако ее величина была несколько меньше, что, вероятно, обусловлено прямым токсическим действием на них углеводородов нефти.

Азолен стимулировал развитие аборигенных углеводородоокисляющих микроорганизмов серой лесной почвы, особенно при загрязнении нефтью (табл. 2), что согласуется с данными о корреляции роста численности углеводородоокисляющих и азот-

Динамика численности азотфиксаторов, олигонитрофилов (среда Эшби) и углеводородсодержащих микроорганизмов (среда Ворошиловой—Диановой) в серой лесной почве при ремедиации Азоленом

Варианты опытов	Численность микроорганизмов, % образстания				Численность микроорганизмов, КОЕ/г×10 ³			
	3 суток	30 суток	60 суток	120 суток	3 суток	30 суток	60 суток	120 суток
Контроль	63.3 ± 2.7	64.9 ± 2.9	65.2 ± 3.1	42.1 ± 2.0	15.0 ± 0.3	20.0 ± 0.7	8.0 ± 0.1	5.0 ± 0.2
Контроль + Азолен	68.9 ± 3.2*	94.3 ± 7.7	78.8 ± 2.7	49.0 ± 2.1	25.0 ± 1.3	80.0 ± 2.2	170.0 ± 16.8	45.0 ± 1.4
1 % нефти	53.2 ± 2.1	55.8 ± 2.0	58.9 ± 2.8	41.0 ± 1.1*	40.0 ± 1.7	30.0 ± 1.1	17.0 ± 0.5	11.0 ± 0.3
1 % нефти + Азолен	61.7 ± 2.3*	77.9 ± 3.5	73.7 ± 2.2	44.8 ± 1.9*	250.0 ± 10.1	350.0 ± 17.0	115.0 ± 4.1	30.0 ± 2.2
4 % нефти	51.2 ± 2.3	52.6 ± 1.7	44.4 ± 1.1	29.5 ± 1.2	30.0 ± 1.2	25.0 ± 1.2	30.0 ± 1.0	3.0 ± 0.3
4 % нефти + Азолен	71.6 ± 3.3	71.0 ± 1.5	70.0 ± 3.4*	57.4 ± 2.3	1.6 ± 0.2	150.0 ± 5.2	130.0 ± 7.3	13.0 ± 0.5
8 % нефти	62.0 ± 2.8*	62.2 ± 3.1*	71.9 ± 3.2	60.0 ± 2.4	14.0 ± 0.5	15.0 ± 0.2	13.0 ± 0.7	45.0 ± 2.1
8 % нефти + Азолен	67.1 ± 3.0*	85.0 ± 2.4	73.6 ± 2.6	60.3 ± 5.1	1.7 ± 0.2	140.0 ± 6.7	70.0 ± 3.0	40.0 ± 2.0

Примечание. Звездочкой отмечены значения, не отличающиеся от контроля по критерию Стьюдента, с достоверностью 0.95. То же для табл. 2 и 5.

Влияние загрязнения нефтью и рекультивации серой лесной почвы на численность микромицетов (среда Чапека) и длину грибного мицелия

Варианты опытов	Численность микроорганизмов, КОЕ/г×10 ³				Длина мицелия, м/г			
	3 суток	30 суток	60 суток	120 суток	3 суток	30 суток	60 суток	120 суток
Контроль	52.4 ± 1.8	1.40 ± 0.03	7.5 ± 0.3	1.3 ± 0.4	0.37	0.41	0.35	0.35
Контроль + Азолен	45.2 ± 2.5	6.00 ± 0.03	15.3 ± 5.3	8.5 ± 0.5	0.29	0.42*	0.26	0.42
1 % нефти	63.0 ± 2.0	69.6 ± 2.5	48.3 ± 2.0	38.4 ± 1.0	0.44	1.06	0.63	0.72
1 % нефти + Азолен	88.6 ± 4.1	16.20 ± 0.1	37.8 ± 1.3	46.2 ± 5.6	0.45	0.72	0.44	0.65
4 % нефти	40.4 ± 1.4	20.6 ± 0.8	98.8 ± 4.5	151.5 ± 8.6	0.63	1.63	0.65	1.65
4 % нефти + Азолен	73.0 ± 2.2	2.00 ± 0.03	35.2 ± 1.4	55.2 ± 1.5	0.67	1.67	0.83	1.67
8 % нефти	38.5 ± 1.5	24.8 ± 1.0	60.3 ± 2.1	27.2 ± 1.0	0.70	1.75	1.88	1.70
8 % нефти + Азолен	64.3 ± 1.5	17.0 ± 0.6	15.3 ± 5.3	20.1 ± 2.5*	0.42	1.62	0.85	1.57

фиксирующих микроорганизмов в нефтезагрязненных почвах (Квасников, Ключникова, 1982; Терещенко и др., 2004). Увеличение численности углеводородокисляющих микроорганизмов привело к возрастанию степени разложения загрязнителя, причем в наиболее загрязненных вариантах (4 и 8 %) увеличение было более значительным, чем при низкой концентрации нефти. Если в варианте с 1 % нефти разложилось 63 %, что лишь немногим отличалось от показателя, полученного в нерекультивированной почве (59.2 %), то при концентрации 4 % увеличение составило 26 % (62.3 против 49.2 % без внесения Азолена); при 8%-м загрязнении под влиянием Азолена было утилизировано 73.5 % нефти (без применения биопрепарата — 61.3 %).

Нефтяное загрязнение серой лесной почвы в концентрации 1 % стимулировало развитие микроскопических грибов на начальных этапах инкубации; увеличение концентрации поллютанта (4 и 8 %) приводило к снижению численности микромицетов по сравнению с чистой почвой (табл. 2). Однако в дальнейшем (через 30, 60 и 120 суток) из нефтезагрязненных почв выделялось больше грибов, чем из почв контрольного варианта. Полученные результаты согласуются с данными более ранних работ (Киреева и др., 2005; Терехова, 2007). Внесение биопрепарата приводило к увеличению численности микромицетов на начальных сроках ремедиации (3-и сутки) по сравнению с загрязненными аналогами. Однако в ходе эксперимента численность микроскопических грибов в этих вариантах оставалась более низкой, чем в нефтезагрязненной почве. Это явление может быть обусловлено, с одной стороны, действием антигрибных метаболитов, продуцируемых *Azotobacter vinelandii* ИБ 4, с другой — быстрым исчерпанием дополнительного углерода, поступившего с нефтью, за счет жизнедеятельности углеводородокисляющей микробиоты, активно развивающейся в вариантах с применением биопрепарата (табл. 1). Аналогичная тенденция была выявлена и при определении длины мицелия микроскопических грибов (табл. 2). Исключение составил вариант с 4%-м загрязнением, где при использовании Азолена выявлена несколько большая длина мицелия, чем в нефтезагрязненной почве. Полученный результат, вероятно, связан с уменьшением интенсивности спорообразования у микромицетов в этом варианте эксперимента.

В ходе эксперимента из исследуемой почвы было выделено 25 видов микромицетов, при этом в большинстве случаев это были малочисленные изоляты, выделявшиеся однократно (табл. 3). В серой лесной почве преобладали грибы из рода *Penicillium* — 44.4 % от общего числа обнаруженных видов. В незагрязненной почве грибы этого рода были представлены лишь двумя видами — *P. glabrum* и *P. simplicissimum*. Внесение Азолена в незагрязненную почву привело к увеличению числа видов в 2 раза, главным образом за счет появления редких и случайных видов из рода *Penicillium*: *P. adametzi*, *P. canescens*, *P. chrysogenum*, *P. lignorum*, *P. lilacino-echinulatum*, *P. restrictum*, *P. variable*, *P. velutinum*. В этом же варианте эксперимента выявлялись *Gliomastix murorum* var. *murorum*, *Trichoderma koningii* и *Verticillium* sp., не отмеченные в контрольном варианте. В результате увеличивается разнообразие видов при «слабых» воздействиях различных веществ (Лебедева, 2000; Марфенина, 2005), к каковым, вероятно, можно отнести и Азолен.

Некоторые микромицеты были выделены как случайные виды лишь в вариантах с загрязнением *P. implicatum* (4 % нефти) и *Clonostachys rosea* f. *rosea* (1 и 8 % нефти соответственно). Совместное воздействие двух факторов — загрязнения нефтепродуктами и биоремедиации Азолоном — приводило как к выделению новых случайных видов (*Alternaria humicola*, *Aspergillus flavus* var. *oryzae*, *Fusarium poae*, *Torula erecta*), так и к исчезновению некоторых из них, например *Cladosporium herbarum*. Состав комплекса был представлен 5—7 типичными видами, из них лишь пять видов были обнаружены во всех вариантах опыта (табл. 3). Входящий в группу редких видов в незагрязненной почве *Aspergillus fumigatus* становился частым при нефтяном загрязнении. Применение Азолена способствовало некоторому снижению его плотности в рекультивируемой почве. Аналогичным образом *A. niger* реагировал на исследуемые воздействия. Следует отметить, что перечисленные грибы из рода *Aspergillus* вызывают определенный интерес в плане оценки экологической безопасности для че-

Таблица 3

**Видовой состав микромицетов серой лесной почвы при загрязнении нефтью
и ремедиации Азолоном**

Виды	Частота встречаемости, %							
	К	К + А	1 %	1 % + А	4 %	4 % + А	8 %	8 % + А
<i>*Aspergillus flavus</i> var. <i>oryzae</i> (Ahlb.) Kurtzman, M. J. Smiley, Robnett et Wicklow	—	—	—	—	8.3/25	8.5/25	—	—
<i>*A. fumigatus</i> Fresen.	8.3/50	20.8/50	33.3/75	16.7/50	33.3/75	20.8/75	33.3/75	20.8/75
<i>*A. niger</i> Tiegh.	4.2/25	4.2/50	33.3/75	16.7/75	12.5/50	4.2/25	16.7/75	8.3/50
<i>Alternaria humicola</i> Oudem.	—	—	—	—	8.3/25	8.3/25	—	—
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	4.2/25	4.2/25	4.2/25	—	4.2/25	—	—	—
<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i> (Link.) Schroers, Samuels, Seifert et W. Gams	—	—	4.2/25	—	—	—	4.2/25	—
<i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenw.	—	—	—	8.5/50	—	—	—	—
<i>Gliomastix murorum</i> var. <i>murorum</i> (Corda) S. Hughes	—	4.2/25	—	—	4.2/25	—	—	—
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	16.7/75	16.7/75	16.7/75	20.8/75	4.2/25	16.7/75	8.3/50	16.7/25
<i>Paecilomyces victoriae</i> (Svilv.) A. H. S. Br. et G. Sm.	33.3/75	4.2/25	16.7/25	33.3/75	25/50	16.7/75	8.3/25	25/50
<i>Penicillium adametzii</i> K. M. Zalessky	—	8.3/50	4.2/25	—	—	—	8.3/25	—
<i>*P. canescens</i> Sopp	—	4.2/25	25/25	8.3/25	—	—	—	—
<i>*P. chrysogenum</i> Thom	—	8.3/25	8.3/25	—	—	4.2/25	—	—
<i>*P. funiculosum</i> Thom	—	—	—	—	12.5/50	—	8.3/50	4.2/25
<i>*P. glabrum</i> (Wehmer) Westling	8.3/25	4.2/25	4.2/25	8.3/50	4.2/25	—	4.2/25	—
<i>P. implicatum</i> Biourge	—	—	—	—	4.2/25	—	—	—
<i>P. lignorum</i> Stolk.	—	4.2/25	—	4.2/25	—	—	—	—
<i>P. lilacinoechinulatum</i> Abe	—	4.2/25	—	—	—	—	—	—
<i>*P. restrictum</i> J. C. Gilman et E. V. Abbott	—	4.2/25	—	—	—	—	—	—
<i>P. simplicissimum</i> (Oudem.)	37.5/100	25/75	25/50	29/50	41.6/75	45.8/75	45.8/75	37.5/100
<i>*P. variabile</i> Sopp	—	4.2/25	4.2/25	—	4.2/25	8.3/50	4.2/25	4.2/25
<i>*P. velutinum</i> J. F. H. Beyma	—	8.3/50	—	8.3/50	—	—	12.5/75	8.3/50
<i>Torula erecta</i> Corda	4.2/25	—	—	4.2/25	—	8.3/25	4.2/25	—
<i>*Trichoderma koningii</i> Oudem.	—	33.3/75	4.2/25	4.2/25	12.5/50	4.2/25	4.2/25	4.2/25
<i>T. viride</i> Pers.	20.8/100	4.2/25	4.2/25	4.2/25	—	—	8.3/25	—
<i>Verticillium</i> sp.	—	4.2/25	4.2/25	—	—	—	—	—
<i>Mycelia sterilia</i> (white)	4.2/25	—	—	—	—	4.2/25	—	—
Н	1.52	0.99	0.98	0.99	0.44	0.72	0.44	1.37

Примечание. Прочерк — вид не обнаружен; звездочкой отмечены фитотоксичные виды; К — контроль, К + А — контроль + Азолон, 1 % — 1 % нефти, 1 % + А — 1 % нефти + Азолон, 4 % — 4 % нефти, 4 % + А — 4 % нефти + Азолон, 8 % — 8 % нефти, 8 % + А — 8 % нефти + Азолон; Н — индекс Шеннона.

**Коэффициенты сходства Сёрнсена—Чекановского микобиот
различных вариантов эксперимента**

Варианты опытов	К	К + А	1 %	1 % + А	4 %	4 % + А	8 %	8 % + А
Контроль + Азолен	0.48	—	—	—	—	—	—	—
1 % нефти	0.55	0.60	—	—	—	—	—	—
1 % нефти + Азолен	0.61	0.65	0.52	—	—	—	—	—
4 % нефти	0.47	0.58	0.59	0.52	—	—	—	—
4 % нефти + Азолен	0.73	0.52	0.67	0.65	0.57	—	—	—
8 % нефти	0.44	0.67	0.69	0.67	0.67	0.53	—	—
8 % нефти + Азолен	0.55	0.60	0.62	0.67	0.74	0.59	0.69	—

ловека, представляя оппортунистические грибы из группы BSL 2 (Марфенина, 2005). Поэтому увеличение их встречаемости при нефтяном загрязнении, а затем снижение встречаемости под воздействием Азолена указывают на его явно положительное влияние. Напротив, *Paecilomyces victoricae* оказался чувствительным к нефтяному загрязнению, и лишь в вариантах с применением Азолена его встречаемость возрастала. Вид *Penicillium simplicissimum* преобладал как в контроле, так и в образцах загрязненных и рекультивируемых вариантов, что свидетельствует о его устойчивости к углеводородам нефти. К группе видов BSL 1, вызывающих глубокие микозы на фоне иммунодефицита, относится *Mucor hiemalis* (Марфенина, Фомичева, 2007). В нашем эксперименте этот вид неоднозначно реагировал как на нефтяное загрязнение, так и на биоремедиацию с применением Азолена. В варианте с низкой концентрацией нефти (1 %) его встречаемость была выше, чем при более существенном загрязнении. Применение Азолена в вариантах с 1%-й и 4%-й концентрациями поллютанта увеличивало этот показатель, а в варианте с 8 % нефти — уменьшало.

Грибы из рода *Trichoderma* реагировали на воздействие загрязнения углеводородами и биоремедиацию Азолоном. Если вид *T. viride*, являясь типичным редким в серой лесной почве, при воздействии нефти и Азолена переходил в разряд случайных, то *T. koningii* в варианте с внесением Азолена в чистую почву был типичным частым видом, а при загрязнении 4 % нефти становился редким, при этом биоремедиация приводила к еще большему уменьшению его встречаемости.

Расчет индексов Шеннона показал, что внесение Азолена в чистую почву и загрязнение нефтью приводят к существенному уменьшению видового разнообразия. Применение биопрепарата для ремедиации нефтезагрязненной почвы способствует некоторому увеличению этого показателя, особенно заметному при высокой концентрации поллютанта. Увеличение видового разнообразия микромицетов при использовании для рекультивации нефтезагрязненной серой лесной почвы неспециализированного биопрепарата Бациспесцина было отмечено нами ранее (Киреева и др., 2006).

Расчет коэффициентов сходства комплексов микромицетов в различных вариантах показал, что внесение Азолена в незагрязненную нефтью почву существенно изменяет комплекс типичных видов (табл. 4). Увеличение концентрации нефти приводило к уменьшению сходства между незагрязненной и загрязненной почвой, тогда как применение биопрепарата способствовало возрастанию сходства комплексов микромицетов рекультивируемых вариантов и незагрязненной почвы.

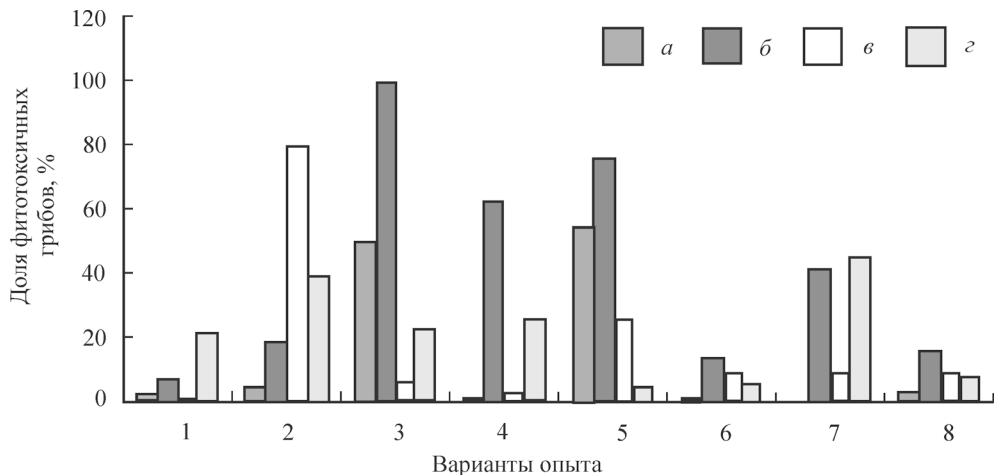
Показателем, характеризующим нарушения свойств почвы при нефтяном загрязнении, служит ее токсичность по отношению к высшим растениям. Загрязнение серой лесной почвы нефтью привело к возрастанию ее фитотоксичности. Токсическое воздействие нефтяного загрязнения на семена редиса проявлялось в течение 60 суток. Применение Азолена для биоремедиации нефтезагрязненной почвы способствовало снижению токсичности и достижению значений, сопоставимых с показателями, полученными для незагрязненной почвы, уже через 3 суток после внесения препарата (табл. 5).

Всхожесть семян редиса обыкновенного в серой лесной почве в процессе ее ремедиации Азолоном

Варианты опытов	Всхожесть семян, %			
	3 суток	30 суток	60 суток	90 суток
Контроль	95.4 ± 4.1	95.9 ± 3.7	96.0 ± 4.1	100.0 ± 4.1
Контроль + Азолен	84.4 ± 5.1	88.5 ± 3.6	100.0 ± 3.1*	100.0 ± 0.5*
1 % нефти	60.0 ± 2.7	56.2 ± 2.3	52.0 ± 2.3	86.7 ± 3.3
1 % нефти + Азолен	95.6 ± 4.2*	92.2 ± 3.6*	84.0 ± 5.7	100.0 ± 2.1*
4 % нефти	77.8 ± 3.5	75.0 ± 1.0	60.0 ± 2.1	73.3 ± 3.2
4 % нефти + Азолен	100.0 ± 4.4*	84.7 ± 3.3	65.0 ± 3.0	93.3 ± 2.6*
8 % нефти	77.8 ± 3.3	66.3 ± 3.0	48.0 ± 1.7	73.3 ± 3.0
8 % нефти + Азолен	93.3 ± 2.0*	75.1 ± 3.2	60.0 ± 1.4	93.3 ± 2.6*

Известна связь между токсическими свойствами почвы и содержанием в ней токсинообразующих форм грибов (Берестецкий, 1978). Так, при воздействии на почву тяжелых металлов, вызывающих ее токсикоз, наличие грибов-токсинообразователей может быть дополнительным фактором, отрицательно влияющим на развитие растений в загрязненных почвах (Лебедева, 2000). В нашем эксперименте оказалось, что не только загрязнение нефтью, но и внесение биопрепарата приводило к возрастанию доли фитотоксичных видов микромицетов в составе микобиоты (см. рисунок). Однако наибольшее количество токсичных видов выделено при 1%-м загрязнении нефтью, увеличение концентрации поллютанта не приводило к возрастанию их доли. Внесение биопрепарата в нефтезагрязненную почву способствовало снижению содержания токсичных форм грибов, причем в вариантах с 4%-м и 8%-м загрязнением этот эффект был выражен сильнее. Снижение токсичности почвы, рекультивируемой при помощи Азолена, очевидно, обусловлено как разложением нефти под воздействием углеводородокисляющих микроорганизмов, так и снижением содержания фитотоксичных видов микромицетов.

Проведенные исследования показали, что применение Азолена для биоремедиации нефтезагрязненной серой лесной почвы существенно воздействует на комплекс



Доля фитотоксичных грибов, выделенных из загрязненных нефтью и рекультивируемых серых лесных почв.

1 — контроль, 2 — контроль + Азолен, 3 — 1 % нефти, 4 — 1 % нефти + Азолен, 5 — 4 % нефти, 6 — 4 % нефти + Азолен, 7 — 8 % нефти, 8 — 8 % нефти + Азолен. а — 3 суток, б — 30, в — 60, з — 120 суток.

микромикетов. При внесении биопрепарата в нефтезагрязненную почву уменьшается численность грибов, снижается доля фитотоксичных видов, возрастает степень разложения нефти, что приводит к быстрому снижению фитотоксичности рекультивируемой почвы. Внесение Азолена в нефтезагрязненную почву увеличивает видовое разнообразие комплекса микромикетов. Положительный результат от применения Азолена особенно заметен при средних (4 %) и высоких (8 %) концентрациях нефти.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Берестецкий О. А. Фитотоксины почвенных микроорганизмов и их экологическая роль // Фитотоксические свойства почвенных микроорганизмов. Л.: ВНИИСХМ, 1978. С. 7—30.

Биккинина А. Г. Разработка технологии рекультивации нефтезагрязненных объектов с использованием комплекса микробиологических препаратов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа: Ин-т биологии УНЦ РАН, 2007. 23 с.

Билай В. И., Коваль Э. З. Аспергиллы. Киев: Наук. думка, 1988. 204 с.

Градова Н. Б., Горнова И. Б., Эддауди Р., Салина Р. Н. Использование бактерий рода *Azotobacter* при биоремедиации нефтезагрязненных почв // Прикл. биохимия и микробиология. 2003. Т. 39, № 3. С. 318—321.

Квасников Е. Л., Ключникова Т. М. Трансформация углеводов нефти в биосфере // Структура и функции микробных сообществ почв с различной антропогенной нагрузкой / Тез. докл. респ. конф. (17—21 мая 1982, Чернигов). Киев: Наук. думка, 1982. С. 5—8.

Киреева Н. А., Бакаева М. Д., Галимзянова Н. Ф. Изменение видового разнообразия микромикетов нефтезагрязненных почв при биоремедиации // Микология и фитопатология. 2006. Т. 40, вып. 1. С. 47—52.

Киреева Н. А., Мифтахова А. М., Бакаева М. Д., Водопьянов В. В. Комплексы почвенных микромикетов в условиях техногенеза. Уфа: Гилем, 2005. 360 с.

Лебедева Е. В. Микромикеты — индикаторы техногенного загрязнения почв // Микология и криптогамная ботаника в России: традиции и современность. СПб., 2000. С. 173—176.

Логинов О. Н., Пугачева Е. Г., Силищев Н. Н., Бойко Т. Ф., Галимзянова Н. Ф. Штамм бактерий *Azotobacter vinelandii* для получения биопрепарата для борьбы с корневыми гнилями пшеницы и повышения количества урожая // Патент РФ. № 22224791, 2005. Бюл. изобр. № 4.

Марфенина О. Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.

Марфенина О. Е., Фомичева Г. М. Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Современные тенденции // Микология сегодня / Под ред. Ю. Т. Дьякова, Ю. В. Сергеева. Т. 1. М.: Национальная академия микологии, 2007. 376 с.

Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 304 с.

Муратова А. Ю., Турковская О. В., Антонюк Л. П., Макаров О. Е., Позднякова Л. И., Игнатов В. В. Нефтеокисляющий потенциал ассоциативных ризобактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. 2005. Т. 54, № 2. С. 248—254.

Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 468 с.

Терехова В. А. Микромикеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.

Терещенко Н. Н., Лушников С. В., Пышьева Е. В. Биологическая азотфиксация как фактор ускорения микробной деградации нефтяных углеводов в почве и способы ее стимулирования // Биотехнология. 2004. № 5. С. 69—79.

McGill W. B., Rowell M. J. Determination of oil content of oil contaminated soil // Sci. Tot. Environ. 1980. Vol. 14, N 3. P. 245—253.

Raper B., Fennell D. I. The genus *Aspergillus*. Baltimore: The Williams and Wilkins Co., 1965. 686 p.

Raper B., Thom C. A. Manual of *Penicillia*. New York; London: Hafner Publishing Company, 1968. 875 p.

Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species. Florida, 2000. 411 p.

Башкирский государственный университет
Институт биологии УНЦ РАН
Уфа
vodop@yandex.ru

Поступила 30 VII 2008

РЕЗЮМЕ

Изучено влияние биопрепарата Азолен на комплекс микромицетов нефтезагрязненной серой лесной почвы Республики Башкортостан. Показано, что его применение существенно изменяет состав комплекса микромицетов. При внесении биопрепарата в нефтезагрязненную почву уменьшается численность грибов, снижается доля фитотоксичных видов, возрастает степень деградации нефти, что приводит к быстрому снижению фитотоксичности рекультивируемой почвы. Внесение Азолена в нефтезагрязненную почву способствует увеличению видового разнообразия комплекса микромицетов.

Ключевые слова: биопрепарат Азолен, нефтезагрязненная почва, рекультивация почв, комплексы микромицетов, фитотоксичность.

SUMMARY

Influence of the biopreparation Azolen on micromycetes complex from oil polluted grey forest soil (Republic Bashkortostan) is studied. It is shown that the use this biopreparation significantly changes micromycetes complexes composition. Under the introduction of the biopreparation into oil polluted soil the number of fungi decreases, as well as the share of phytotoxic species, and the extent of oil degradation increases. These factors lead to fast decrease of phytotoxicity of recultivated soil. Introduction of Azolen into the oil polluted soil facilitates the increase of fungal species biodiversity.

Key words: biopreparation Azolen, oil polluted soil, soil recultivation, micromycetes complexes, phytotoxicity.