

control site (zinc – up to 2,60; copper – up to 0,90; lead – up to 5,60; cadmium – up to 0,59 mg/kg of soil) does not exceed the level of their maximum-permissible concentration and background contents in soils of the Kirov Region. For the undeveloped site the increased content of total and mobile compounds of the studied metals in the top layers is noted; it can be caused by biogenous accumulation of these elements by plants. The developed soils (the drained sites) are characterized by considerable fluctuations of elements content both in different profiles, and in the different layers of the same profile. Here the maximum content of elements in separate layers is much higher than control (zinc – up to 126,0; copper – up to 34,0; lead – up to 17,0; cadmium – up to 1,2 mg/kg of soil). Economic use of the peat bogs leads to an active mineralization of the top part of the remained peat mass. As a result of these processes stability of biogeochemical cycles of separate elements is broken. At the same time, the received data allow to consider soils of control sites as indicators of surrounding environment condition. The good safety of peat deposits gives the opportunity to study processes of accumulation and migration of chemical elements.

**Keywords:** peat deposit; fen; transition-type bog; drainage of bog; accumulation of metals; zinc; copper; lead; cadmium; soil profile; Zenginsky peatbog; Kirov Region; zone type of soil formation; maximum-permissible concentration; regional background level.

\* \* \*

УДК 574.22:574.23:57.044

DOI 10.24411/2309-4370-2019-13111

Статья поступила в редакцию 15.06.2019

## МОДЕЛЬНОЕ БИОТЕСТИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ *RHIZOBIUM MELILOTI*

© 2019

**Ознобихина Анастасия Олеговна**, аспирант, ассистент кафедры техносферной безопасности  
*Тюменский индустриальный университет (г. Тюмень, Российская Федерация)*

**Першаков Анатолий Юрьевич**, аспирант кафедры  
технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства

**Ерёмин Дмитрий Иванович**, доктор биологических наук, профессор кафедры почвоведения и агрохимии  
*Государственный аграрный университет Северного Зауралья (г. Тюмень, Российская Федерация)*

**Аннотация.** Исследование заключается в проведении биотестирования модельно загрязненной тяжелыми металлами среды с использованием в качестве тест-объекта микроорганизмов *Rhizobium meliloti*. В лабораторных условиях установлена реакция жизнеспособности клубеньковых бактерий донника и люцерны к свинцу, кадмию, меди и цинку. Действие изучаемых металлов на численность колоний зависит от концентрации химического элемента, физиологического действия микроэлемента, биологических особенностей используемых штаммов. Проведенными исследованиями определена прямая зависимость снижения роста численности колоний ризобий донника и люцерны с возрастанием концентрации солей тяжелых металлов. Ингибирование числа колоний имело выраженную закономерность при загрязнении среды свинцом, медью и кадмием в концентрации 0,3%, при последующем увеличении наблюдалась полная гибель микроорганизмов. С внесением в питательную среду цинка в малых концентрациях прослеживалась положительная тенденция устойчивости бактерий донника и люцерны. Так, при 0,01–0,1% содержании соли цинка число выросших колоний находилось выше уровня контроля и составило 714–987 шт. при контрольном значении – 578 шт. В среде с концентрацией 0,5% цинка отмечен значительный спад роста ризобий донника до 65 шт. колоний. При этом у колоний ризобий люцерны в данных концентрациях прослеживалась более низкая степень выживаемости, критической стала среда 0,3% цинка.

**Ключевые слова:** клубеньковые бактерии; ризобии донника; ризобии люцерны; жизнеспособность колоний; тяжелые металлы; моделирование среды; токсичность среды; ингибирование жизнеспособности; критическая концентрация; токсиканты; цинк; медь; кадмий; свинец; окультуривание техногенно-загрязненных почв.

### Введение

В настоящее время, в связи с возрастающим поступлением тяжелых металлов в почвенный покров значительных территорий, особо актуально внедрение безопасных и высокоэффективных технологий рекультивации техногенно-загрязненных почв, включающих использование фитометодов, применение эффективных биопрепаратов, восстановление продуктивности нарушенных земель, мероприятия, регулирующие подвижность опасных веществ [1–4].

Следует отметить, что в данный момент нет четко установленных сведений о возможностях возделывания полевых культур в условиях преобразованных почв с использованием комплексного фито-биосорбционного модуля.

Важным звеном, осуществляющим протекание наиболее значимых почвенных процессов, являются микроорганизмы. Они способствуют поддержанию почвенного плодородия, участвуют в круговороте биогенных элементов, положительно влияют на режим питания возделываемых культур, стимулируют у растений рост, развитие и устойчивость к стрессовым условиям, являются источником дополнительно накапливающегося «биологического» азота в почве за счет связывания молекулярного азота воздуха [5–13].

Способностью фиксировать молекулярный азот обладают клубеньковые бактерии – симбиотические азотфиксирующие микроорганизмы, с помощью которых осуществляется образование клубеньков и связывание соединений азота [14, с. 157–159].

Активность симбиоза клубеньковых бактерий с бобовыми растениями во многом зависит от внешних условий, в которых используется конкретный штамм микроорганизмов, а также от физиологических особенностей растений [15, с. 46–47].

Одной из актуальных проблем в экологических исследованиях по окультуриванию техногенно-загрязнённых почв является изучение роли микроорганизмов, их поведения в антропогенно-преобразованных условиях и влияния на процессы трансформации веществ в агроэкосистеме.

Ранее было показано влияние свинца, цинка, меди и кадмия на посевные качества семян фитомелиорантов донника и люцерны (энергию прорастания и лабораторную всхожесть) [16].

Проведение лабораторных исследований выращивания клубеньковых бактерий с использованием моделирования загрязнённой тяжёлыми металлами среды позволит установить возможность жизнеспособности ризобий в условиях токсического действия свинца, кадмия, цинка и меди, выявить влияние конкретного токсиканта, определить оптимальные и ингибирующие концентрации.

Цель представленных исследований – оценить устойчивость азотфиксирующих бактерий *Rhizobium meliloti* к различным концентрациям свинца, кадмия, меди и цинка при моделировании загрязнённых сред.

В качестве объекта исследований были выбраны производственные штаммы азотфиксирующих ризобактерий *Rhizobium meliloti*.

#### Материалы и методика исследования

Бактерии выращивались в лабораторных условиях при температуре 26°C. Посев производили в чашки Петри из ризоторфина при десятикратном разбавлении на плотной питательной агаризованной среде, обогащённой солями тяжёлых металлов, (г/л: горох – 50; вода – 1; агар – 20; сахароза – 10;  $K_2HPO_4$  – 0,5; и количество соли, соответствующее изучаемому варианту). Для моделирования загрязнённой тяжёлыми металлами среды использовали легкорастворимые соли: нитрат свинца, сульфат меди, сульфат цинка и

нитрат кадмия в концентрации 0,01%; 0,1%; 0,3%; 0,5%; 1%; 3%; 5%; 6%. Повторность опыта трехкратная. Контролем служили чашки Петри с питательной бобовой средой без солей тяжёлых металлов. Подсчет колоний проводили на 4 сутки [17–21; 22, с. 164–176].

#### Результаты исследований и их обсуждение

В ходе исследований установлена разная степень выживаемости клубеньковых бактерий по каждому отдельному загрязнителю. Бактерии донника и бактерий люцерны реагировали на токсичность среды не одинаково. Наглядно динамика жизнеспособности ризобий представлена на рисунке 1 и рисунке 2.

В присутствии кадмия рост колоний ризобий донника был наименьшим и составил 71 шт. при концентрации 0,01% токсиканта и 43 шт. при концентрации 0,1% содержания, при этом в контрольном варианте количество колоний составило 578 шт. Численность колоний люцерны при данном химизме незначительно была выше относительно донника – 124 и 64 колонии в 0,01% и 0,1% концентрации, соответственно, при значениях контрольного варианта – 540 шт. Полное угнетение ризобий отмечалось при 0,3% и выше содержания кадмия в питательной среде.

Снижение числа клубеньковых микроорганизмов наблюдалось и при загрязнении среды свинцом. Так, количество колоний бактерий донника составило 259 шт., люцерны 180 шт. – в 0,01% концентрации соли; 213 шт. и 155 шт. соответственно – в 0,1% концентрации, что ниже контрольных показателей в 2,2–3,4 раза. При более высоких изучаемых в опыте концентрациях колонии симбионтов не развивались.

При добавлении в питательную среду соли сульфата меди угнетение бактерий прослеживалась в концентрации 0,01% – количество колоний ризобий донника здесь составляло 344 шт., люцерны 452 шт., при 0,1% содержании данной соли число ризобий было 121 и 147 шт. соответственно. Концентрация 0,3% и выше являлась ингибирующей, колонии бактерий здесь не выживали.

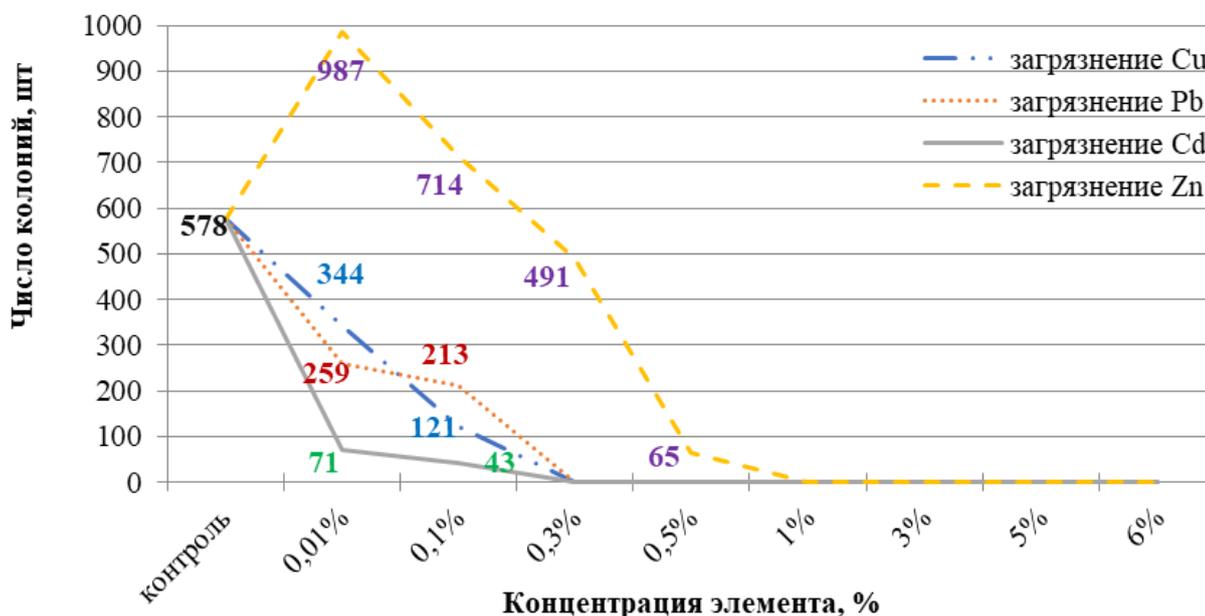
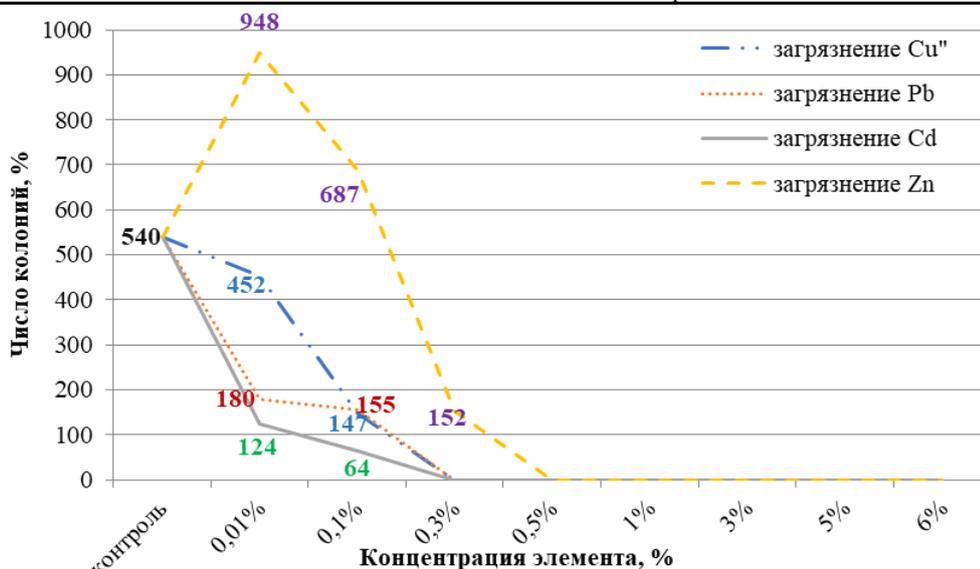


Рисунок 1 – Численность колоний клубеньковых бактерий донника желтого в загрязнённой тяжёлыми металлами среде, шт.



**Рисунок 2** – Численность колоний клубеньковых бактерий люцерны посевной в загрязненной тяжелыми металлами среде, шт.

Положительная динамика роста колоний клубеньковых микроорганизмов наблюдалась при внесении в модельную среду цинка. Концентрация элемента 0,01% стимулировала численность ризобий донника и люцерны в 1,7 раза по сравнению с контрольным вариантом и составила 987 шт. – штамм донника и 948 шт. – штамм люцерны при 578 и 540 шт., соответственно, на контроле. Содержание 0,1% цинка в среде также оказывало благоприятное воздействие на рост бактерий: 714 шт. у донника и 687 шт. у люцерны. При 0,3% загрязнении количество колоний оставалось практически на уровне контроля 491 шт. у штамма донника и заметно снизилось до 152 шт. у штамма люцерны. В 0,5% среде цинка прослеживалось сильное угнетение ризобий донника, их число составило здесь 65 шт. колоний.

Таким образом, оценив влияние токсичности среды, загрязненной тяжелыми металлами, на жизнеспособность клубеньковых бактерий донника и люцерны, можно выделить следующие закономерности: штаммы бактерий донника и штаммы бактерий люцерны не одинаково реагируют на токсичность тяжелых металлов. Жизнеспособность ризобий донника выше на средах, загрязненных свинцом и цинком, у ризобий люцерны – медью и кадмием. Летальная концентрация питательной среды при загрязнении свинцом, медью и кадмием установлена на уровне 0,3% и выше. Цинк оказывал наименьшее ингибирующее действие на выживаемость симбионтов: при выращивании в среде с 0,01–0,1% содержанием отмечено стимулирование роста колоний донника и люцерны выше контрольного варианта. Последующее увеличение концентрации соли цинка приводит к заметному угнетению жизнеспособности исследуемых штаммов.

#### Список литературы:

1. Скипин Л.Н., Храмов Н.В., Петухова В.С. Подбор штаммов клубеньковых бактерий для рекультивации засоленных почв, грунтов и буровых шламов // *Аграрный вестник Урала*. 2014. № 7 (125). С. 81–83.
2. Синдирева А.В., Майданюк Г.А. Экологическая оценка действия свинца в системе «почва – растение – животное» и разработка научно обоснованных приемов его детоксикации // *Вестник КрасГАУ*. 2018. № 6. С. 244–249.

3. Ерёмин Д.И., Попова О.Н. Формирование почвенной микрофлоры в антропогенно-преобразованных почвах // *Вестник ГАУ СЗ*. 2015. № 4 (31). С. 7–12.

4. Ерёмин Д.И., Попова О.Н. Агроэкологическая характеристика микромицетов, обитающих в почве // *Вестник ГАУ СЗ*. 2016. № 1 (32). С. 12–18.

5. Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н.А. Практикум по биологии почв: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 2002. 120 с.

6. Лактионов Ю.В., Попова Т.А., Кожемяков А.П. Биопрепарат под бобовую культуру жидкой формы на основе клубеньковых бактерий патент на изобретение RU 2514217 29.11.2012.

7. Тихонович И.А., Завалин А.А., Благовещенская Г.Г., Кожемяков А.П. Использование биопрепаратов – дополнительный источник элементов питания растений // *Плодородие*. 2011. № 3 (60). С. 9–13.

8. Артемьев Е.Г., Ерёмин Д.И. Роль азотфиксации в формировании гороха в условиях северной лесостепи Тюменской области // *Вестник КрасГАУ*. 2009. № 3. С. 60–66.

9. Скипин Л.Н., Гузеева С.А., Петухова В.С. Активизация симбиотического аппарата бобовых трав при освоении солонцов // *Вестник КрасГАУ*. 2013. № 10 (85). С. 85–90.

10. Скипин Л.Н., Петухова В.С., Богданова О.Г., Митриковский А.Я. Активность клубеньковых бактерий в условиях засоления буровых шламов // *Актуальные проблемы строительства, экологии и энергосбережения в условиях Западной Сибири: сборник материалов междунар. науч.-практ. конф. В 3-х т. Т. II. Тюмень: РИО ТюмГАСУ, 2014. С. 196–202.*

11. Скипин Л.Н., Петухова В.С., Перфильев Н.В., Храмов Н.В. Параметры жизнедеятельности клубеньковых бактерий при изменении эдафических факторов // *Вестник КрасГАУ*. 2014. № 6 (93). С. 103–108.

12. Лактионов Ю.В., Кожемяков А.П., Елисеев В.В. Роль клубеньковых бактерий в возделывании бобовых культур // *Агро-Информ*. 2014. № 2 (184). С. 34–36.

13. Завалин А.А., Кожемяков А.П. Новые технологии производства и применения биопрепаратов комплексного действия. СПб.: Химиздат, 2010. 60 с.

14. Емцев В.Т. Рубежи биотехнологии. М.: Агропромиздат, 1986. 157 с.

15. Доросинский Л.М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. Л.: Колос, 1970. 184 с.
16. Ознобихина А.О. Границы всхожести семян фитомелиорантов в присутствии токсичных концентраций тяжёлых металлов // Самарский научный вестник. 2019. Т. 8, № 1 (26). С. 82–86.
17. Кожемяков А.П., Тимофеева С.В., Попова Т.А. Разработка и перспективы использования биопрепаратов комплексного действия // Защита и карантин растений. 2008. № 2. С. 42–43.
18. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учебное пособие. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. 224 с.
19. Разумовская З.Г., Чижик Р.Я., Громов Б.В. Лабораторные занятия по почвенной микробиологии. Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1960. 179 с.
20. Посыпанов Г.С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха: справочное пособие. М.: Агропромиздат, 1991. 299 с.
21. Аристовская Т.В., Владимирская М.Е., Голлербах М.М. Большой практикум по микробиологии. М.: Высш. шк., 1962. 487 с.
22. Скипин Л.Н. Солонцы Сибири: экологические аспекты освоения. Ялуторовск: Тюм. издат. дом, 2000. 260 с.

### A MODEL BIOASSAY FOR INFLUENCE OF HEAVY METAL SALTS TOXICITY ON THE VIABILITY OF NODULE-FORMING BACTERIA *RHIZOBIUM MELILOTI*

© 2019

**Oznobikhina Anastasia Olegovna**, postgraduate student, assistant of Technosphere Safety Department  
*Industrial University of Tyumen (Tyumen, Russian Federation)*

**Pershakov Anatoly Yuryevich**, postgraduate student

of Production Technology, Storage and Processing Crop Production Department

**Yeremin Dmitry Ivanovich**, doctor of biological sciences, professor of Soil Science and Agrochemistry Department  
*Northern Trans-Urals State Agricultural University (Tyumen, Russian Federation)*

*Abstract.* The study consists of a bioassay of a medium experimentally contaminated with heavy metals using *Rhizobium meliloti* microorganisms as a test object. In vitro, the viability reaction of clover and alfalfa nodule bacteria to lead, cadmium, copper and zinc was established. The effect of the studied metals on the number of colonies depends on the concentration of the chemical element, physiological action of the microelement and biological characteristics of the strains used. The studies performed have determined a direct relationship of reducing the growth in the rhizobia colonies number of clover and alfalfa with an increase in the concentration of salts of heavy metals. Inhibition of the colonies number had a high regularity when the environment was contaminated with lead, copper and cadmium at a concentration of 0,3%; with a subsequent increase, complete death of microorganisms was observed. With the introduction of zinc into the nutrient medium in small concentrations, a positive resistance tendency of the clover and alfalfa bacteria was observed: thus, at 0,01–0,1% of the zinc salt content, the number of grown colonies was above the control level and amounted to 714–987 pcs. at the control value of 578 pcs. In an environment with a concentration of zinc 0,5%, a significant decrease in the growth of clover rhizobia was noted up to 65 pieces of colonies. At the same time, in the alfalfa rhizobia colonies in these concentrations a lower degree of survival was observed and the environment of zinc 0,3% became critical.

*Keywords:* nodule bacteria; clover rhizobia; alfalfa rhizobia; viability of colonies; heavy metals; environment modelling; environmental toxicity; inhibition of vitality; critical concentration; toxicants; zinc; copper; cadmium; lead; cultivation of technologically polluted soils.

\* \* \*

УДК 597–169:597.553.2(282.254.31+282.256.53)

DOI 10.24411/2309-4370-2019-13112

Статья поступила в редакцию 12.06.2019

### ВИДОВОЙ СОСТАВ И СТРУКТУРА КОМПОНЕНТНЫХ СООБЩЕСТВ ПАЗАРИТОВ ТУГУНА *COREGONUS TUGUN* (PALLAS, 1814) ИЗ РЕК ХАТАНГА И ЕНИСЕЙ

© 2019

**Поляева Ксения Викторовна**, ведущий специалист лаборатории гидробиологии

*Красноярский филиал Всероссийского научно-исследовательского института  
рыбного хозяйства и океанографии (г. Красноярск, Российская Федерация)*

**Доровских Геннадий Николаевич**, доктор биологических наук,

профессор кафедры безопасности жизнедеятельности

*Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина*

*(г. Сыктывкар, Российская Федерация)*

**Чугунова Юлия Константиновна**, кандидат биологических наук,

заведующий лабораторией гидробиологии

*Красноярский филиал Всероссийского научно-исследовательского института  
рыбного хозяйства и океанографии (г. Красноярск, Российская Федерация)*

*Аннотация.* Впервые приводятся данные о видовом составе и структуре компонентных сообществ паразитов тугуна, эндемика Сибири, отловленного в период нерестовой миграции из р. Хатанга и трех участков