

Модельный эксперимент по оценке влияния штамма-нефтедеструктора *Pseudomonas schmalbachii* N3.1 и растений-ремедиантов на биологическую активность загрязнённой нефтью и гербицидами почвы

© 2026. Т. Ю. Коршунова, д. б. н., в. н. с., Л. А. Кульбаева, м. н. с.,
Е. В. Кузина, к. б. н., с. н. с., М. Г. Искужина, к. б. н., н. с.,
Г. Ф. Рафикова, к. б. н., с. н. с., С. Р. Мухаматдырова, к. б. н., с. н. с.,
Уфимский Институт биологии
Уфимского федерального исследовательского центра РАН (УИБ УФИЦ РАН),
450054, Россия, г. Уфа, пр. Октября, д. 69,
e-mail: korshunovaty@mail.ru

Растущая потребность в источниках энергии ведёт к усилению контаминации почв (в том числе сельскохозяйственных) нефтепродуктами, что требует поиска эффективных методов восстановления нарушенных территорий. В работе оценивается эффективность применения штамма-нефтедеструктора *Pseudomonas schmalbachii* N3.1 отдельно и совместно с растениями люпина и овса для очистки от нефти почвы, дополнительно загрязнённой гербицидами на основе имазетапира или трибенурон-метила. Анализировались изменения численности микроорганизмов (аммонифицирующих, углеводородокисляющих, олигонитрофильных), дыхательной и ферментативной активности почвы, а также содержания в ней нефтепродуктов. Установлено, что нефть менее токсична для микробиоценоза почвы, чем гербициды, а сочетание растений и бактерий существенно повышает количество микроорганизмов изученных эколого-трофических групп. При раздельном использовании люпина и бактерий дыхательная активность почвы с нефтью увеличивалась на 31–36 %. Наибольшая активность каталазы зафиксирована под посевами овса, в том числе в инокулированной почве (8,72–12,25 и 9,12–10,95 мл O₂/г мин соответственно). Биоремедиация способствовала росту инвертазной активности (в 1,7–3,5 раза), при этом максимальный эффект отмечался при сочетании растений и микроорганизмов (2,44–4,37 и 2,09–4,51 мг глюкозы/24 ч/г в почве с люпином и овсом соответственно). Все виды биоремедиации снижали содержание нефтепродуктов в почве, но минимальный показатель был достигнут при совместном использовании *P. schmalbachii* N3.1 и растений овса (2,3–2,8 г/кг).

Ключевые слова: нефть, гербициды, бактерии-нефтедеструкторы, фиторемедианты, дыхательная и ферментативная активность.

Model experiment to assess the effect of oil-destructor strain *Pseudomonas schmalbachii* N3.1 and remediant plants on the biological activity of soil contaminated with oil and herbicides

© 2026. Т. Ю. Korshunova ORCID: 0000-0002-6186-0827,
L. A. Kulbaeva ORCID: 0009-0007-0999-7125, E. V. Kuzina ORCID: 0000-0002-6905-0108,
M. G. Iskuzhina ORCID: 0000-0003-0196-9596, G. F. Rafikova ORCID: 0000-0001-7655-5588,
S. R. Mukhamatdyarova ORCID: 0000-0001-7641-7943,
Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences (UIB UFRC RAS),
69, Oktyabrya Ave., Ufa, Russia, 450054,
e-mail: korshunovaty@mail.ru

The increasing demand for energy sources is leading to greater contamination of soils, including agricultural, by oil products. It requires the search for effective methods to restore the disturbed territories. This study evaluates the effectiveness of using the hydrocarbon-degrading strain *Pseudomonas schmalbachii* N3.1, both individually and in combination with *Lupinus albus* L. and *Avena sativa* L. plants to purify soil from oil that has been contaminated with imazethapyr- or tribenuron-methyl-based herbicides. The study analyzes changes in the abundance of microorganisms

(ammonifying, hydrocarbon oxidizing, oligonitrophilic), soil respiratory and enzyme activity, as well as the soil content of oil products. It was found that oil is less toxic to the soil microbiocenosis than the herbicides, while the combination of plants and bacteria significantly increases the number of microorganisms of the studied groups. When *L. albus* and bacteria were applied separately, soil respiratory activity in oil-contaminated samples increased by 31–36 %. The highest catalase activity was recorded in *A. sativa* plantings, including inoculated soils (8.72–12.25 and 9.12–10.95 ml O₂/g·min, respectively). Bioremediation promoted an increase in invertase activity (by 1.7–3.5 times), with the maximum effect observed when plants and microorganisms were combined (2.44–4.37 and 2.09–4.51 mg glucose/24 h/g in soils with *L. albus* and *A. sativa*, respectively). All types of bioremediation reduced the oil product content in soils. The lowest values were achieved with the combined use of *P. schmalbachii* N3.1 and *A. sativa* (2.3–2.8 g/kg). This was probably due to the highest number of hydrocarbon-oxidizing bacteria (up to 13·10⁷ CFU/g) and significant catalase activity (up to 11 ml O₂/g·min).

Keywords: oil, herbicides, oil degrading bacteria, phytoremediants, respiratory and enzymatic activity.

Аварии на нефтепроводах, проходящих через сельскохозяйственные угодья, приводят к выведению значительных площадей плодородных земель из целевого оборота. Как правило, такие почвы для подавления сорной растительности подвергали многолетней обработке гербицидами. Эти препараты затрудняют использование биологических методов для ликвидации последствий нефтяного загрязнения, так как присутствие их остаточных количеств негативно сказывается на росте и развитии растений [1, 2], а также отрицательно воздействует на работу микробного сообщества почвы и её ферментативную активность [3]. Перспективным выходом из сложившейся ситуации является интродукция микроорганизмов-нефтедеструкторов, которые были бы устойчивы к гербицидам как дополнительным поллютантам и одновременно стимулировали рост фиторемедиантов при комплексной контаминации нефтью и гербицидами. Благодаря своей способности к разложению углеводов эти бактерии могут положительно влиять на активность ферментов почвы и жизнедеятельность её микробиома. Кроме того, внесение полифункциональных микроорганизмов позволит растениям легче переносить стрессовые условия, вызванные полихимическим загрязнением почвы, а также эффективнее участвовать в процессе её ремедиации. Результаты комплексной оценки воздействия углеводов, гербицидов, микроорганизмов и растений по отдельности и совместно на биологическую активность почвы могут быть впоследствии использованы для создания методов очистки и биоиндикации нарушенных территорий.

Целью работы являлось изучение влияния устойчивых к гербицидам бактерий-нефтедеструкторов, стимулирующих рост растений, а также фиторемедиантов на микробиологическую, респираторную, ферментативную активность и содержание углеводов в почве, загрязнённой нефтью и/или гербицидами.

Объекты и методы исследования

Для бактеризации почвы применяли штамм *Pseudomonas schmalbachii* N3.1 из коллекции Уфимского Института биологии УФИЦ РАН (ВКМ В-3755), выделенный авторами статьи из нефтезагрязнённой почвы в Нефтеюганском районе ХМАО – Югра Тюменской области. Штамм разлагает нефть в жидкой среде на 73 %, устойчив к гербицидам классов имидазолинов и сульфанилмочевин, продуцирует фитогормон индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) и обладает способностью к усилению роста растений в почве, загрязнённой нефтью или гербицидами [4].

В качестве фиторемедиантов выступали растения люпина белого (*Lupinus albus* L.) сорта Дера (сем. Fabaceae) и овса посевного (*Avena sativa* L.) сорта Рысак (сем. Poaceae), которые, как было установлено нами ранее [5], проявляли устойчивость к нефти и гербицидам различных классов.

Для обработки почвы применяли системные гербициды российского производства: Тапир (класс имидазолины, действующее вещество имазетапир, ООО «Агро Эксперт Групп») и Спецназ (класс сульфанилмочевины, действующее вещество трибенурон-метил, ООО «Евроагрокемикалс») [6].

В эксперименте использовали чернозём оподзоленный (*Luvic Phaeozems*) (верхний горизонт, 0–20 см), очищенный от камней и растительных остатков и характеризующийся следующими признаками: гумус – 9,5 %, N_{общ} – 0,53 %, P_{вал} – 0,2 %, K_{вал} – 1,6 %, рН_{ккл} – 6,16. В сосуды объёмом 500 мл помещали по 400 г почвенно-песчаной смеси (9 : 1) или почвенно-песчаной смеси, загрязнённой товарной нефтью в количестве 20,0 г/кг почвы. Далее увлажняли водой или раствором какого-либо гербицида, дозы внесения которых были увеличены в 2 раза по сравнению с рекомендациями производителя и составили

для Тапира 20,0 мкл/кг почвы, а для Спецназа – 0,5 мг/кг почвы.

Непосредственно перед посадкой растений почву поливали водопроводной водой или разбавленной культуральной жидкостью штамма *P. schmalbachii* N3.1 с титром 10^6 КОЕ/мл. Затем в стаканы высаживали по 5 или 6 трёхсуточных проростков люпина или овса соответственно. Растения выращивали 21 сутки при температуре 22–24 °C в условиях светоплощадки при интенсивности светового потока 240 мкмоль/м · с ФАР, 14-часовом фотопериоде. Для оптимизации водно-воздушного режима использовали дренаж и стеклянные трубки, влажность в течение эксперимента поддерживали на уровне 60 % от полной влагоёмкости.

Варианты опыта (добавки к почве): № 1–3. Нефть или Тапир или Спецназ; № 4–5. Нефть + Тапир или Спецназ; № 6–7. Растения люпина или овса + нефть; № 8–11. Растения люпина или овса + Тапир или Спецназ; № 12–15. Растения люпина или овса + нефть + Тапир или Спецназ; № 16–18. *P. schmalbachii* N3.1 + нефть или Тапир или Спецназ; № 19–20. *P. schmalbachii* N3.1 + нефть + Тапир или Спецназ; № 21–26. Растения люпина или овса + *P. schmalbachii* N3.1 + нефть или Тапир или Спецназ; № 27–30. Растения люпина или овса + *P. schmalbachii* N3.1 + нефть + Тапир или Спецназ.

После окончания эксперимента оценивали численность некоторых эколого-трофических групп микроорганизмов (аммонифицирующих, углеводородокисляющих (УОМ), олигонитрофильных (совместно с азотфиксирующими), содержание нефтепродуктов в почве, её ферментативную и респираторную активность.

Учёт численности микроорганизмов осуществляли посевом почвенной суспензии на агаризованные питательные среды: аммонификаторов – на мясо-пептонный агар, УОМ – на среду Раймонда со 100 мкл стерильной нефти в качестве источника углерода, олигонитрофилов и азотфиксаторов – на среду Эшби [7, 8].

Содержание нефтепродуктов в почве устанавливали гравиметрически в соответствии с ПНД Ф 16.1.41-04 и выражали в процентах.

Активность каталазы анализировали газометрически по объёму выделившегося кислорода при разложении перекиси водорода, инвертазы – спектрофотометрически путём определения количества редуцирующих сахаров, уреазы – колориметрически через

образование окрашенных комплексов с реактивом Несслера [9].

Респираторную активность почвы определяли методом абсорбции гидроксида натрия по количеству выделившегося CO_2 [10].

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных программ MS Excel. Результаты представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка. Достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Повторность вариантов трёхкратная.

Результаты и обсуждение

Почвенные микроорганизмы являются важнейшим звеном в биогеохимических циклах минеральных элементов и участвуют в обеспечении экосистемных и биосферных функций почвы [11]. Они оперативно реагируют на любые перемены в окружающей среде и могут служить надёжными индикаторами биологической активности почвы и её нарушения под влиянием антропогенного воздействия [12]. Высокая чувствительность микробного сообщества позволяет проводить раннюю диагностику любых изменений и использовать показатели численности микроорганизмов различных физиолого-биохимических групп для биомониторинга состояния почв. Известно, что на плотность микробных популяций существенное влияние оказывает pH почвы [13]. Во всех вариантах опыта с присутствием нефти происходило небольшое снижение pH_{KCl} с 6,16 до 6,11–6,13, что, вероятно, связано с постепенным разложением углеводов до органических кислот. Несмотря на некоторое подкисление среды, её реакция оставалась благоприятной для почвенной микробиоты, поскольку диапазон pH от 6 до 8 считается для неё оптимальным [13]. В отличие от нефти, внесение гербицидов не оказало влияния на pH_{KCl} почвы (он оставался на уровне 6,15–6,16), что уже отмечалось ранее [14].

В настоящем исследовании при нефтяном и комбинированном загрязнении количество аммонифицирующих, УОМ и олигонитрофильных (включая азотфиксирующие) микроорганизмов превышало таковое в почве только с гербицидами (табл.). Очевидно, что нефть оказывала менее выраженное токсическое действие, чем химические препараты и каким-то образом частично нивелировала их негативное влияние на почвенный микробценоз. Использование по отдельности штамма *P. schmalbachii* N3.1 или фиторемедиантов

Численность микроорганизмов в почве, $\cdot 10^6$ КОЕ/г
The number of microorganisms in the soil, $\cdot 10^6$ CFU/g

Вариант (добавки к почве) Variant (soil additives)		Аммонифи- цирующие Ammonifying	Угдеводород- окисляющие Hydrocarbon- oxidizing	Олиго- нитрофильные Oligonitrophilic
Без ремедиации No remediation	Нефть / Oil	$20,0 \pm 0,8$	$6,1 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$
	Тапир / Tapir	$7,3 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,1$
	Спецназ / Spetsnaz	$8,4 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,1$	$4,1 \pm 0,2$
	Нефть + Тапир Oil + Tapir	$25,8 \pm 0,5$	$9,9 \pm 0,3$	$9,2 \pm 0,2$
	Нефть + Спецназ Oil + Spetsnaz	$36,0 \pm 0,8$	$17,9 \pm 0,2$	$9,7 \pm 0,3$
<i>Lupinus albus</i>	Нефть / Oil	$100,2 \pm 4,3$	$12,8 \pm 0,3$	$28,0 \pm 0,8$
	Тапир / Tapir	$50,1 \pm 1,7$	$6,4 \pm 0,2$	$6,4 \pm 0,2$
	Спецназ / Spetsnaz	$30,3 \pm 0,6$	$2,8 \pm 0,1$	$10,2 \pm 0,3$
	Нефть + Тапир Oil + Tapir	$99,5 \pm 3,6$	$17,1 \pm 0,4$	$64,6 \pm 1,5$
	Нефть + Спецназ Oil + Spetsnaz	$160,4 \pm 4,6$	$20,7 \pm 0,8$	$67,7 \pm 1,8$
<i>Avena sativa</i>	Нефть / Oil	$29,8 \pm 1,1$	$7,9 \pm 0,3$	$10,3 \pm 0,4$
	Тапир / Tapir	$7,1 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,1$	$8,2 \pm 0,2$
	Спецназ / Spetsnaz	$20,0 \pm 0,9$	$2,3 \pm 0,2$	$14,1 \pm 0,6$
	Нефть + Тапир Oil + Tapir	$79,5 \pm 2,9$	$8,7 \pm 0,2$	$12,0 \pm 0,3$
	Нефть + Спецназ Oil + Spetsnaz	$90,3 \pm 3,3$	$10,2 \pm 0,2$	$40,4 \pm 1,1$
<i>P. schmalbachii</i> N3.1	Нефть / Oil	$39,2 \pm 1,6$	$38,6 \pm 1,5$	$19,4 \pm 0,8$
	Тапир / Tapir	$12,3 \pm 0,4$	$8,9 \pm 0,3$	$8,3 \pm 0,2$
	Спецназ / Spetsnaz	$11,1 \pm 0,3$	$9,8 \pm 0,4$	$9,8 \pm 0,3$
	Нефть + Тапир Oil + Tapir	$50,4 \pm 1,6$	$23,7 \pm 0,8$	$28,6 \pm 0,5$
	Нефть + Спецназ Oil + Spetsnaz	$46,8 \pm 1,8$	$24,9 \pm 0,9$	$24,6 \pm 0,4$
<i>L. albus</i> + <i>P. schmalbachii</i> N3.1	Нефть / Oil	$96,5 \pm 2,6$	$39,0 \pm 1,3$	$65,7 \pm 1,3$
	Тапир / Tapir	$47,3 \pm 1,4$	$9,5 \pm 0,3$	$32,6 \pm 0,6$
	Спецназ / Spetsnaz	$52,6 \pm 1,5$	$7,4 \pm 0,2$	$17,4 \pm 0,4$
	Нефть + Тапир Oil + Tapir	$95,9 \pm 3,5$	$46,6 \pm 2,1$	$40,8 \pm 0,8$
	Нефть + Спецназ Oil + Spetsnaz	$90,2 \pm 3,1$	$30,3 \pm 0,9$	$69,8 \pm 1,9$
<i>A. sativa</i> + <i>P. schmalbachii</i> N3.1	Нефть / Oil	$158,4 \pm 5,3$	$122,9 \pm 5,1$	$38,7 \pm 1,4$
	Тапир / Tapir	$36,0 \pm 1,2$	$8,9 \pm 0,2$	$32,8 \pm 1,2$
	Спецназ / Spetsnaz	$62,8 \pm 1,9$	$12,6 \pm 0,5$	$8,9 \pm 0,3$
	Нефть + Тапир Oil + Tapir	$168,0 \pm 5,7$	$99,1 \pm 2,3$	$27,3 \pm 0,5$
	Нефть + Спецназ Oil + Spetsnaz	$99,4 \pm 3,7$	$93,3 \pm 2,1$	$56,1 \pm 1,2$

(особенно люпина) приводило к увеличению численности всех трёх эколого-трофических групп микроорганизмов по сравнению с почвой без биорекультивации (табл.). При этом вполне ожидаемо, что в инокулированной штаммом-нефтедеструктором почве численность УОМ была выше, чем в почве с растениями. Плотность популяций всех учитываемых групп ещё более возрастала при совместном применении растений и *P. schmalbachii* N3.1, вероятно, за счёт «ризосферного эффекта» [15]. Самое значительное количество УОМ зафиксировано в бактеризованной почве под посевами овса, а олигонитрофильных микроорганизмов – в инокулированной почве с люпином. Как известно, корневые экссудаты, содержащие различные питательные вещества (сахара, аминокислоты, фенолы и пр.), играют важную роль в селекции микроорганизмов ризосферы [16], поэтому можно предположить, что корневые выделения овса наиболее подходили для УОМ, а люпина – для олигонитрофилов и азотфиксаторов.

Выделение почвой углекислого газа (дыхание) характеризует интенсивность газообмена между почвой и атмосферой. Решающая роль в этом процессе принадлежит микроорганизмам, которые разлагают органическое вещество. Поэтому скорость эмиссии CO_2 даёт представление о численности почвенной микробиоты и является одним из показателей биологической активности почвы [17]. Антропогенное воздействие приводит к изменению структуры микробсообщества и его способности к использованию органических соединений. При этом может наблюдаться как снижение количества выделившегося углекислого газа [18], так и его увеличение, например, после разливов нефти, что обусловлено ростом численности, в первую очередь, УОМ [19]. В настоящем эксперименте в присутствии только нефти применение по отдельности люпина и бактерий приводило к повышению дыхательной активности почвы на 31–36 % по сравнению с нефтесодержащей почвой без биоремедиации (рис. 1а).

Вероятно, это связано со значительным увеличением численности аммонифицирующих микроорганизмов и УОМ (табл.) в ответ на появление дополнительного источника углерода и энергии в виде нефти. Также значительный вклад в выработку CO_2 в почве вносят растения за счёт дыхания корней и образования ими экссудатов, которые способствуют возрастанию количества ризосферных микроорганизмов, в том числе бактерий-

деструкторов поллютантов [20]. Кроме того, корни способны экскретировать ферменты, осуществляющие деградацию органических веществ (например, ПАУ), находящихся в почве [21] и, тем самым, тоже увеличивать эмиссию углекислого газа. Поэтому самая высокая дыхательная активность почвы только с нефтью (10,51 и 13,32 CO_2 -С/г·ч) наблюдалась при одновременном использовании растений (особенно овса) и штамма *P. schmalbachii* N3.1, способного к стимуляции роста растений в загрязнённой почве [4]. Такое усиление дыхания нефтесодержащей почвы при применении микробно-растительных ассоциаций уже отмечалось ранее [22].

Фиторемедианты оказывали разнонаправленный эффект на респираторную активность почвы с гербицидами. По сравнению с аналогичными вариантами без биоремедиации, под посевами люпина она возрастала или оставалась на прежнем уровне, а под посадками овса – уменьшалась (в том числе в инокулированной почве). Аналогичная картина наблюдалась и при комбинированном загрязнении.

Почвенные ферменты играют ведущую роль в разложении и трансформации органического вещества почвы, высвобождают доступные питательные субстраты для микробиоты и участвуют в циклах биогенных элементов [12]. Их активности придаётся большое значение при оценке влияния поллютантов на экологическое состояние почв [23]. Фермент класса оксидоредуктаз – каталаза – ускоряет разложение пероксида водорода, образующегося в результате биохимических реакций окисления органических соединений (включая поллютанты), метаболизма аэробных микроорганизмов и в процессе дыхания растений, на воду и молекулярный кислород. В результате снижается токсическое действие пероксида водорода, и создаются более благоприятные условия для жизнедеятельности аэробных микроорганизмов, в том числе для бактерий-деструкторов ксенобиотиков. Поэтому каталазная активность (КА), наряду с численностью основных групп микроорганизмов, отражает интенсивность процессов очищения почвы от нефти. В настоящей работе использование растений и бактерий по отдельности и совместно приводило к увеличению КА во всех вариантах опыта по сравнению с почвой без рекультивации (рис. 1б), что свидетельствует об ускорении протекания окислительно-восстановительных реакций в почве. При этом реактивность фермента в инокулированной и неинокулированной почве

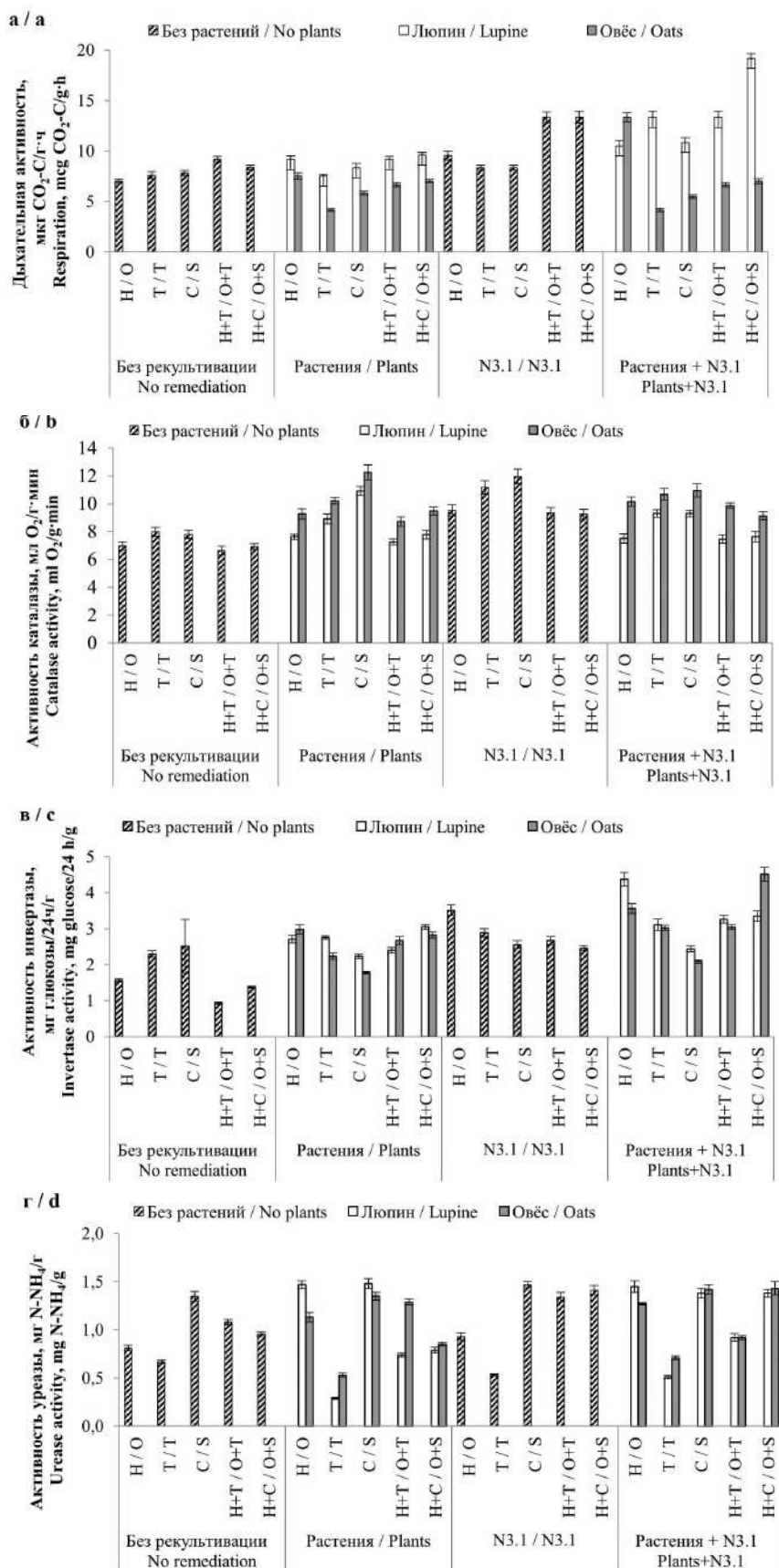


Рис. 1. Дыхательная (а), каталазная (б), инвертазная (в) и уреазная (г) активность почвы. N3.1 – *Pseudomonas schmalbachii* N3.1; Н – нефть; Т – Тапир; С – Спецназ; Н+Т – нефть + Тапир; Н+С – нефть + Спецназ / **Fig. 1.** Soil respiratory (a), catalase (b), invertase (c) and urease (d) activity. N3.1 – *Pseudomonas schmalbachii* N3.1; O – oil; T – Tapir; S – Spetsnaz; O+T – oil + Tapir; O+S – oil + Spetsnaz

под посевами овса (9,12–10,95 и 8,72–12,25 мл O_2 /г·мин соответственно) была более высокой по сравнению с аналогичными вариантами в почве с люпином (7,46–9,29 и 7,25–10,92 мл O_2 /г·мин соответственно). Как уже отмечалось ранее [24], гербициды стимулировали КА, но их внесение в почву с нефтью либо угнетало её, либо не оказывало эффекта на этот показатель.

При аварийных нефтеразливах в почве происходит изменение соотношения C : N, что влияет, в частности, на процессы нитрификации и круговорот углерода и азота. Инвертаза участвует в биохимической трансформации углеводов, расщепляя гликозидные связи сахарозы до мономеров – глюкозы и фруктозы, которые являются источником питания для микроорганизмов. Поэтому высокий уровень активности этого фермента свидетельствует о развитии почвенного микробоценоза. В описываемом опыте по сравнению с нерекультивированной почвой все способы биоремедиации нефтесодержащей почвы (в том числе с гербицидами) приводили к повышению инвертазной активности (ИА) (в 1,7–2,8 раза в почве без гербицидов и в 2,6–3,5 раза в вариантах «нефть + Тапир» и 1,8–3,3 раза в вариантах «нефть + Спецназ») (рис. 1в). Вероятно, это происходило за счёт снижения содержания нефтепродуктов в почве и, как следствие, уменьшения их отрицательного воздействия на реактивность фермента. Гербициды как монозагрязнители по-разному влияли на этот показатель. При использовании Тапира наблюдалась тенденция повышения ИА, а при обработке Спецназом – её снижения. Что касается растений, то оба вида оказывали приблизительно одинаковый эффект на ИА. Но при этом можно отметить более высокий

уровень ИА при их совместном применении со штаммом *P. schmalbachii* N3.1.

Уреаза катализирует гидролиз мочевины на аммиак и углекислый газ, способствуя минерализации органических азотсодержащих веществ в почве. Она связана с почвенным органоминеральным комплексом и её активность характеризует обеспеченность растений аммонийным азотом. В данном эксперименте для уреазной активности (УА) была характерна следующая закономерность – стабильно высокое значение (1,35–1,47 мг $N-NH_4$ /г почвы) в присутствии гербицида Спецназ как монозагрязнителя, независимо от варианта биорекультивации или её отсутствия (рис. 1г). Вероятно, это связано с тем, что указанный препарат относится к классу сульфанилмочевин и содержит в своём составе основной субстрат для действия уреазы – мочевины. Кроме того, уровень УА при одновременном загрязнении нефтью и Спецназом был выше (и равен таковому в почве только с этим гербицидом) в тех вариантах, где присутствовали бактерии (1,38–1,43 мг $N-NH_4$ /г) по сравнению с почвой без интродукции микроорганизмов (почва без рекультивации и почва только с растениями) (0,79–0,96 мг $N-NH_4$ /г). Вероятно, штамм *P. schmalbachii* N3.1 за счёт своей способности к деструкции нефти снижал её токсическое действие на УА.

Использование различных приёмов биоремедиации приводило к уменьшению содержания нефтепродуктов в почве, даже при наличии в ней гербицидов (рис. 2).

По мере увеличения эффективности эти варианты располагались в следующей последовательности (в скобках указано количество нефтепродуктов после примене-

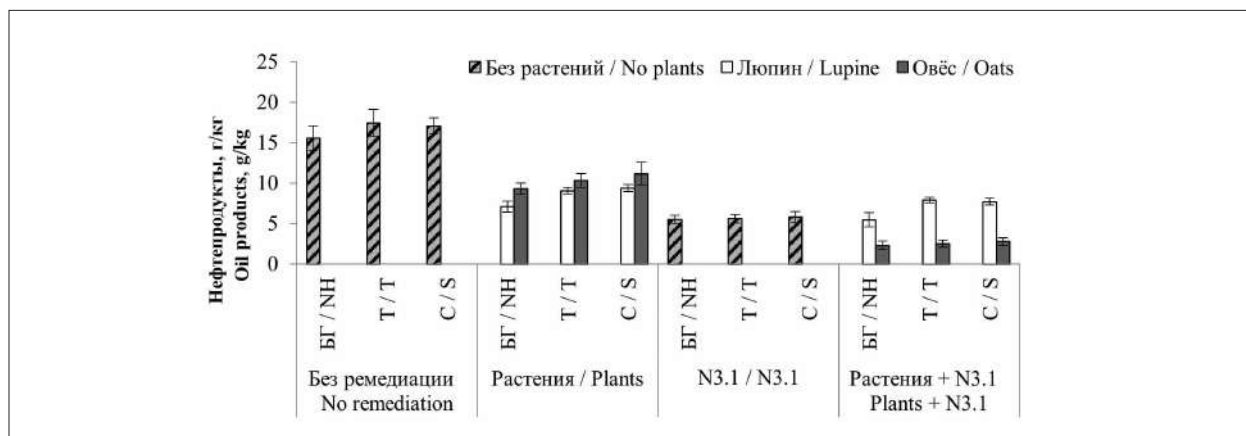


Рис. 2. Содержание нефтепродуктов в почве после окончания опыта, г/кг. N3.1 – *P. schmalbachii* N3.1; БГ – без гербицидов; Т – Тапир; С – Спецназ
Fig. 2. Content of oil products in the soil after the end of the experiment, g/kg. N3.1 – *P. schmalbachii* N3.1; NH – no herbicides; T – Tapir; S – Spetsnaz

ния соответствующего приёма, г/кг): овёс (9,3–11,2) < люпин (7,1–9,4) < *P. schmalbachii* N3.1 (5,5–5,8) < люпин + *P. schmalbachii* N3.1 (5,5–7,9) < овёс + *P. schmalbachii* N3.1 (2,3–2,8). При этом, в тех сосудах, где почву не подвергали биологической очистке, содержание поллютанта находилось в пределах 15,6–17,4 г/кг. Обращает на себя внимание тот факт, что, хотя овёс проявил себя как фиторемедиант несколько хуже, чем люпин, его посадка в инокулированную почву способствовала наиболее значительному уменьшению содержания нефти, вероятно за счёт большего количества УОМ в ризосфере, а также значительного уровня КА (табл., рис.16). Гербициды оказывали достоверное ингибирующее влияние на деградацию нефти только в почве с люпином, независимо от наличия в ней бактерий.

Заключение

Таким образом, в модельном эксперименте применение устойчивых к гербицидам бактерий-нефтедеструкторов *P. schmalbachii* N3.1, а также растений-ремедиантов овса и люпина по отдельности и совместно положительно влияло на биологическую активность почвы, загрязнённой нефтью и/или гербицидами. Это проявлялось в увеличении численности аммонифицирующих, углеводородокисляющих и олигонитрофильных микроорганизмов, повышении респираторной, каталазной и инвертазной активности, а также снижении содержания нефтепродуктов. При этом одновременное использование бактерий и растений оказывало более выраженный эффект на эти показатели. Полученные результаты подтверждают перспективность применения микробно-растительных ассоциаций для биоремедиации почв, загрязнённых нефтью и гербицидами, и могут служить основой для разработки эффективных экологически безопасных технологий для восстановления техногенно нарушенных почв и их последующего возврата в сельскохозяйственное использование.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-24-00130, <https://rscf.ru/project/23-24-00130/>.

Литература

1. Choudhury P.P. Transformation of herbicides in the environment // Herbicide residue research in India. Environmental chemistry for a sustainable world / Eds. S. Sondhia, P. Choudhury, A. Sharma. Singapore:

Springer, 2019. P. 415–442. doi: 10.1007/978-981-13-1038-6_15

2. Колотова О.В., Нефедьева Е.Э., Грибуст И.Р., Сухова Е.А., Звада Е.А., Шевелёва В.В. Применение микробных биотехнологий для устранения в почве остатков гербицидов классов имидазолинонов и сульфанилмочевин (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2023. № 4. С. 16–27. doi: 10.25750/1995-4301-2023-4-016-027

3. Kaur L., Kaur P. Degradation of imazethapyr in soil: impact of application rate, soil physicochemical properties and temperature // Int. J. Environ. Sci. Technol. 2022. V. 19. P. 1877–1892. doi: 10.1007/s13762-021-03137-0

4. Кузина Е.В., Искужина М.Г., Мухаматдырова С.Р., Рамеев Т.В., Коршунова Т.Ю. Углеводородокисляющие бактерии, устойчивые к гербицидам, перспективные для фитобиоремедиации // Экобиотех. 2024. Т. 7. № 3. С. 156–163. doi: 10.31163/2618-964X-2024-7-3-156-163

5. Коршунова Т.Ю., Искужина М.Г., Кузина Е.В., Мухаматдырова С.Р., Рамеев Т.В. Оценка влияния различных загрязнителей на рост и развитие растений-ремедиантов // Экобиотех. 2023. Т. 6. № 3. С. 156–165. doi: 10.31163/2618-964X-2023-6-3-156-165

6. Пестициды.ru – Рациональное листовое питание [Электронный ресурс] <https://www.pesticidy.ru/> (Дата обращения: 15.03.2025).

7. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Developments in industrial microbiology: proceedings of the general meeting of the Society for Industrial Microbiology. New York: Plenum Press, 1961. V. 2. P. 23–32.

8. Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 608 с.

9. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.

10. Xu Y., Seshadri B., Bolan N., Sarkar B., Ok Y.S., Zhang W., Rumpel C., Sparks D., Farrell M., Hall T., Dong Z. Microbial functional diversity and carbon use feedback in soils as affected by heavy metals // Environ. Int. 2019. V. 125. P. 478–488. doi: 10.1016/j.envint.2019.01.071

11. Schlöter M., Nannipieri P., Sørensen S.J., van Elsas J.D. Microbial indicators for soil quality // Biol. Fertil. Soils. 2018. V. 54. No. 1. P. 1–10. doi: 10.1007/s00374-017-1255-4

12. Никитин Д.А., Семёнов М.В., Чернов Т.И., Ксенофонтова Н.А., Железова А.Д., Иванова Е.А., Хитров Н.Б., Степанов А.Л. Микробиологические индикаторы экологических функций почв (обзор) // Почвоведение. 2022. № 2. С. 228–243. doi: 10.31857/S0032180X22020095

13. Neina D. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation // Appl. Environ. Soil Sci. 2019. V. 2019. Article No. 5794869. doi: 10.1155/2019/5794869

14. Щукин С.В., Горнич Е.А., Труфанов А.М., Воронин А.Н., Ваганова Н.В. Влияние минимальной обработки, удобрений и гербицидов на динамику орга-

нического вещества и агрохимических свойств дерново-подзолистой почвы в посевах яровых зерновых культур и вико-овсяной смеси // Известия ТСХА. 2022. № 2. С. 16–31. doi: 10.26897/0021-342X-2022-2-16-31

15. Домрачева Л.И., Скугорева С.Г., Ковина А.Л., Коротких А.И., Стариков П.А., Ашихмина Т.Я. Специфика растительно-микробных комплексов при антропогенном загрязнении почвы (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 3. С. 14–25. doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-014-025

16. Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Растительный микробиом: происхождение, состав и функции // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. 2023. Т. 165. № 2. С. 231–262. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262

17. Kudayarov V.N. Soil respiration and biogenic carbon dioxide sink in the territory of Russia: an analytical review // Eurasian Soil Sc. 2018. V. 51. P. 599–612. doi: 10.1134/S1064229318060091

18. Стома Г.В., Манучарова Н.А., Белокопытова Н.А. Биологическая активность микробных сообществ в почвах некоторых городов России // Почвоведение. 2020. № 6. С. 703–715. doi: 10.31857/S0032180X2006012X

19. Вершинин А.А., Петров А.М., Юранец-Лужаева Р.Ч., Кузнецова Т.В., Хабибуллин Р.Э. Коэффициент микробного дыхания различных типов почв в условиях нефтяного загрязнения // Вестник технологического университета. 2017. Т. 20. № 4. С. 103–106.

20. Гончарова О.Ю., Матышак Г.В., Бобрик А.А., Тимофеева М.В., Сефилян А.Р. Оценка вклада корневого и микробного дыхания в общий поток CO₂ из торфяных почв и подзолов севера Западной Сибири методом интеграции компонентов // Почвоведение. 2019. № 2. С. 234–245. doi: 10.1134/S0032180X19020059

21. Dubrovskaya E., Pozdnyakova N., Golubev S., Muratova A., Grinev V., Bondarenkova A., Turkovskaya O. Peroxidases from root exudates of *Medicago sativa* and *Sorghum bicolor*: catalytic properties and involvement in PAH degradation // Chemosphere. 2017. V. 169. P. 224–232. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.11.027

22. Koohkan H., Mortazavi M.S., Golchin A., Najafi-Ghiri M., Golkhandan M., Akbarzadeh-Chomachaei G., Saraji F. The effect of petroleum levels on some soil biological properties under phytoremediation and bioaugmentation // Environ. Sci. Pollut. Res. 2023. V. 30. P. 60618–60637. doi: 10.1007/s11356-023-26730-x

23. Поляк Ю.М., Сухаревич В.И. Использование микроорганизмов для биоиндикации загрязнения почв: преимущества, ограничения и потенциал (обзор) // Проблемы агрохимии и экологии. 2024. № 4. С. 55–63. doi: 10.26178/AE.2024.39.85.007

24. Наими О.И. Активность каталазы в чернозёме обыкновенном и влияние на неё антропогенных факторов // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2018. № 11-1. С. 12–15. doi: 10.24411/2500-1000-2018-10142

References

1. Choudhury P.P. Transformation of herbicides in the environment // Herbicide residue research in India. Environmental chemistry for a sustainable world / Eds. S. Sondhia, P. Choudhury, A. Sharma. Singapore: Springer, 2019. P. 415–442. doi: 10.1007/978-981-13-1038-6_15

2. Kolotova O.V., Nefedieva E.E., Gribust I.R., Sakhova E.A., Zvada E.A., Shevekeva V.V. Application of microbial biotechnologies to eliminate residues of herbicides of imidazolinone and sulfonyleurea classes in soil (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2023. No. 4. P. 16–27 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2023-4-016-027

3. Kaur L., Kaur P. Degradation of imazethapyr in soil: impact of application rate, soil physicochemical properties and temperature // Int. J. Environ. Sci. Technol. 2022. V. 19. P. 1877–1892. doi: 10.1007/s13762-021-03137-0

4. Kuzina E.V., Iskuzhina M.G., Mukhamatdyarova S.R., Rameev T.V., Korshunova T.Yu. Hydrocarbon-oxidizing bacteria resistant to herbicides, promising for phytobioremediation // Ècobiotech. 2024. V. 7. No. 3. P. 156–163 (in Russian). doi: 10.31163/2618-964X-2024-7-3-156-163

5. Korshunova T.Yu., Iskuzhina M.G., Kuzina E.V., Mukhamatdyarova S.R., Rameev T.V. Evaluation of the influence of various pollutants on the growth and development of remediant plant // Ècobiotech. 2023. V. 6. No. 3. P. 156–165 (in Russian). doi: 10.31163/2618-964X-2023-6-3-156-165

6. Pesticidy.ru – Racional'noe listovoe pitanie [Internet resource] <https://www.pesticidy.ru/> (Accessed: 15.03.2025).

7. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Developments in industrial microbiology: proceedings of the general meeting of the Society for Industrial Microbiology. New York: Plenum Press, 1961. V. 2. P. 23–32.

8. Microbiology Workshop / Ed. A.I. Netrusov. Moskva: Akademiya, 2005. 608 p. (in Russian).

9. Khaziev F.Kh. Methods for soil enzymology. Moskva: Nauka, 2005. 252 p. (in Russian).

10. Xu Y., Seshadri B., Bolan N., Sarkar B., Ok Y.S., Zhang W., Rumpel C., Sparks D., Farrell M., Hall T., Dong Z. Microbial functional diversity and carbon use feedback in soils as affected by heavy metals // Environ. Int. 2019. V. 125. P. 478–488. doi: 10.1016/j.envint.2019.01.071

11. Schlöter M., Nannipieri P., Sørensen S.J., van Elsas J.D. Microbial indicators for soil quality // Biol. Fertil. Soils. 2018. V. 54 (1). P. 1–10. doi: 10.1007/s00374-017-1255-4

12. Nikitin D.A., Semenov M.V., Chernov T.I., Ksenofontova N.A., Zhelezova A.D., Ivanova E.A., Khitrov N.B., Stepanov A.L. Microbiological indicators of ecological functions of soils // Pochvovedenie. 2022. No. 2. P. 228–243 (in Russian). doi: 10.31857/S0032180X22020095

13. Neina D. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation // Appl. Environ. Soil Sci. 2019. V. 2019. Article No. 5794869. doi: 10.1155/2019/5794869

14. Shchukin S.V., Gornich E.A., Trufanov A.M., Voronin A.N., Vaganova N.V. Effects of minimum tillage, fertilizers and herbicides on the dynamics of organic matter and agrochemical properties of sod-podzolic soil when growing spring grain crops and oat-vetch mixtures // *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2022. No. 2. P. 16–31 (in Russian). doi: 10.26897/0021-342X-2022-2-16-31
15. Domracheva L.I., Skugoreva S.G., Kovina A.L., Korotkikh A.I., Starikov P.A., Ashikhmina T.Ya. Specificity of plant-microbial complexes under anthropogenic soil pollution (review) // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. No. 3. P. 14–25 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-014-025
16. Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Plant microbiome: origin, composition, and functions // *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*. 2023. V. 165. No. 2. P. 231–262 (in Russian) doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262
17. Kudayarov V.N. Soil respiration and biogenic carbon dioxide sink in the territory of Russia: an analytical review // *Eurasian Soil Sc.* 2018. V. 51. P. 599–612. doi: 10.1134/S1064229318060091
18. Stoma G.V., Manucharova N.A., Belokopytova N.A. Biological activity of microbial communities in soils of some Russian cities // *Pochvovedenie*. 2020. No. 6. P. 703–715 (in Russian). doi: 10.31857/S0032180X2006012X
19. Vershinin A.A., Petrov A.M., Yuranets-Luzhaeva R.Ch., Kuznetsova T.V., Khabibullin R.E. Coefficient of microbial respiration in different types of soils under oil pollution // *Herald of technological university*. 2017. V. 20. No. 4. P. 103–106 (in Russian).
20. Goncharova O.Y., Matyshak G.V., Timofeeva M.V., Sefilyan A.R. Assessment of the contribution of root and microbial respiration to the total efflux of CO₂ from peat soils and podzols in the north of Western Siberia by the method of component integration // *Pochvovedenie*. 2019. No. 2. P. 234–245 (in Russian). doi: 10.1134/S0032180X19020059
21. Dubrovskaya E., Pozdnyakova N., Golubev S., Muratova A., Grinev V., Bondarenkova A., Turkovskaya O. Peroxidases from root exudates of *Medicago sativa* and *Sorghum bicolor*: catalytic properties and involvement in PAH degradation // *Chemosphere*. 2017. V. 169. P. 224–232. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.11.027
22. Koohkan H., Mortazavi M.S., Golchin A., Najafi-Ghiri M., Golkhandan M., Akbarzadeh-Chomachaei G., Saraji F. The effect of petroleum levels on some soil biological properties under phytoremediation and bioaugmentation // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2023. V. 30. P. 60618–60637. doi: 10.1007/s11356-023-26730-x
23. Polyak Yu.M., Sukharevich V.I. Bioindication of soil pollution using microorganisms: advantages, limitations and potential (review) // *Agrochemistry and Ecology Problems*. 2024. No. 4. P. 55–63 (in Russian). doi: 10.26178/AE.2024.39.85.007
24. Naimi O.I. The catalase activity of the ordinary chernozeme and effect of the anthropogenic factors on its level // *International Journal of Natural and Human Sciences*. 2018. No. 11–1. P. 12–15 (in Russian). doi: 10.24411/2500-1000-2018-10142