

РИЗОСФЕРНОЕ МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ – ОСНОВА НОВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ



А.В. Назаров,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник,
Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН

Анализируются аспекты микробно-растительного взаимодействия, которые могут быть использованы для создания новых биотехнологических методов очистки почв, загрязненных нефтью и ее компонентами. Растения повышают количество микроорганизмов, разлагающих компоненты нефти в почве, изменяют структуру сообщества почвенных микроорганизмов, влияют на почвенные условия и тем самым повышают способность загрязненной почвы к восстановлению. Для эффективного применения микробно-растительных систем при биоремедиации загрязненных почв очень важен уровень биомассы корней растений в почве.

Растения создают множество специфических экологических ниш, заселенных микроорганизмами, которые обитают в растительных тканях, на поверхности различных органов растений, в средах (почве, воде и др.), находящихся под влиянием растений. Выделяют следующие основные взаимодействия между растениями и микроорганизмами: растение – эпифитные микроорганизмы, живущие на поверхности надземных частей растений (филлосфера и филлоплана); растение – эндофитные микроорганизмы, обитающие в тканях растений; растение – микроорганизмы ризосферы и ризопланы (корневой поверхности); растение – клубеньковые азотфиксирующие бактерии; растение – микоризные грибы; растение – фитопатогенные микроорганизмы.

Одно из наиболее сложных и тесных взаимодействий между растениями и микроорганизмами происходит в ризосферной зоне. Считается, что это понятие было введено Лоренцом Хилтнером в 1904 г. Ризосфера – это почва, находящаяся под влиянием корней растений. От растений в почву с корневыми выделениями и отмершими клетками корня постоянно поступают органические вещества. Растение теряет при этом до 30–40 % от всего органического углерода, полученного в процессе фотосинтеза. Вследствие этого в прикорневой зоне формируется микробное сообщество с повышенной численностью. Видовой состав и микробиологические процессы в ризосфере также отличаются от таковых в почве без растений. Постоянное поступ-

ление легкодоступных органических веществ с корневыми выделениями благоприятствует доминированию в ризосферной зоне микробных популяций, обладающих r-стратегией, для которых характерно быстрое размножение, сильное варьирование численности во времени, доминирование при наличии легкодоступных субстратов, меньшие размеры клеток, большая чувствительность к условиям окружающей среды. Типичными доминирующими ризосферными бактериями являются виды рода *Pseudomonas*. В почве без растений доминируют бактерии с K-стратегией, для которых свойственно медленное размножение, малое варьирование численности во времени, доминирование при отсутствии легкодоступных субстратов, большие размеры клеток, меньшая чувствительность к условиям окружающей среды. Типичными из них являются бактерии рода *Arthrobacter*. По современным оценкам размер ризосферной зоны составляет от 0 до 2–8 мм [5], в справочниках обычно приводится величина 2–3 мм.

Наибольшее количество работ, посвященных изучению ризосферного микробно-растительного взаимодействия, выполнено в 1960-е – 1980-е гг., затем отмечается снижение исследований в данном научном направлении. В настоящее время в мире происходит всплеск интереса к исследованиям ризосферной зоны (рис. 1).

Рост количества публикаций, посвященных изучению ризосферных микроорганизмов, в последнее время обусловлен:

1. Новыми методами, пришедшими в экологическую микробиологию (прежде всего это молекулярно-генетические методы исследования).

2. Фундаментальной важностью данного направления исследований. Несмотря на огромное количество сделанных работ, есть понимание, что система микроорганизмы–растения крайне сложна и далеко до конца не изучена.

2. Высокой практической значимостью этой темы, в первую очередь для сельского хозяйства. Известно, что многие микроорганизмы стимулируют рост растений. Считается, что использование микробных технологий позволит существенно повысить продуктивность растений и снизить применение пестицидов и удобрений в сельском хозяйстве. Во вторую очередь рост публикаций по этой теме связан с важностью данного направления для создания новых технологий очистки окружающей среды.

Применение растений для очистки загрязненных экосистем получает в настоящее время все большее развитие. Основные достоинства данного биотехнологического метода: возможность рекультивации больших территорий, меньшая стоимость по сравнению с другими технологиями, высокая эффективность, низкое негативное воздействие на окружающую среду. Считается, что использование растений для очистки почвы от нефти и ее компонентов может быть также очень перспективным методом.

Подавляющее большинство компо-

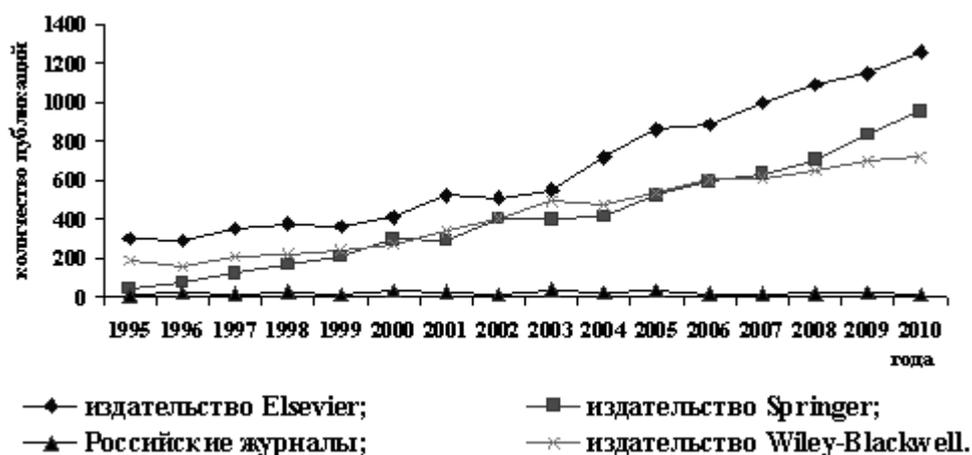


Рис. 1. Количество публикаций, посвященных изучению ризосферы

нентов нефти не усваиваются через корни растений из-за гидрофобности и очень слабо сорбируются из почвы на корнях растений. Поэтому основным механизмом очистки почвы от гидрофобных загрязнителей с участием растений является деструкция данных соединений ассоциированными с растениями микроорганизмами, что обуславливает рост научно-практического интереса к проблеме использования микробно-растительных систем для восстановления нефтезагрязненных почв (рис. 2).

По литературным данным, численность бактерий деструкторов нефти, нефтепродуктов и парафинов в ризосфере обычно в 10–30 раз больше, чем в почве без растений, численность бактерий-деструкторов полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) – в 2–16 раз, однако имеются также данные о меньшей численности бактерий деструкторов ПАУ в ризосфере до 10 раз и более. В полевых экспериментах, проведенных нами, численность нефтеокисляющих микроорганизмов в ризосфере растений в сотни раз

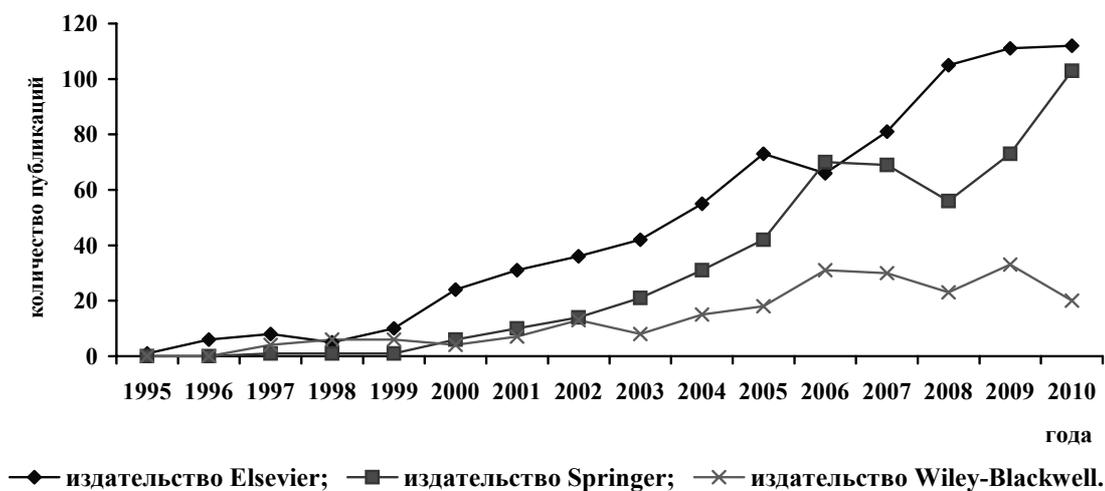


Рис. 2. Количество статей, посвященных использованию микробно-растительных систем для очистки загрязненной почвы от нефти и ее компонентов

В большинстве работ показан относительно невысокий положительный эффект микробно-растительных систем на деструкцию углеводородов и компонентов нефти в почве, присутствие растений увеличивало их разрушение в 1,2–1,5 раза, в меньшем количестве работ деструкция данных загрязнителей увеличивалась до 2–3 раз [4]. В очень немногих работах – в 10 раз и более [1, 7]. Имеются также работы, в которых показано отсутствие влияния на деструкцию загрязнителей в почве или даже отрицательное воздействие микробно-растительных систем.

Предлагаются следующие объяснения, как растения могут стимулировать микробную деструкцию углеводородов в почве.

Первая группа объяснений связана с положительным влиянием растений на численность микроорганизмов деструкторов, а также общую численность микроорганизмов в почве.

превышала численность данных микроорганизмов в почве без растений [4].

Предполагается, что микроорганизмы, ассоциированные с растениями, адаптированы к деструкции многих веществ-загрязнителей, в том числе и углеводородов нефти, так как растения содержат самые различные органические вещества, в том числе структурно схожие с ксенобиотиками, которые поступают в окружающую среду. Так, растения, наряду с микроорганизмами, являются основными продуцентами углеводородов в биосфере, без учета метана. По разным оценкам эмиссия углеводородов растительного происхождения составляет от 500 до 1150 млн т/год. Для сравнения: поступление углеводородов в биосферу, без учета метана, в результате человеческой деятельности оценивается в объеме около 10 % от этих цифр – от 56 до 100 млн т/год [2, 6].

При этом имеются данные об исполь-

зовании в качестве субстрата бактериями деструкторами полициклических соединений таких часто встречающихся в растениях веществ, как флавоноидов и терпеноидов, а также о стимуляции флавоноидами продукции бактериями ферментов, которые разрушают полициклические углеводороды.

Большинство культур углеводородокисляющих микроорганизмов, выделенных из ризосферы наземных растений обычных местообитаний, в том числе и в наших работах, являются видами рода *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Burkholderia*, *Flavobacterium* и другими родами грамотрицательных палочковидных бактерий – типичных обитателей ризосферной зоны, а также принадлежит к актинобактериям, например, виды родов *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter*. В ризосфере болотных растений, кроме бактерий этих групп, обычно обнаруживаются также спорообразующие бактерии родов *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, а также мицелиальные микромицеты. В немногочисленных работах, в которых были исследованы ризосферные микроорганизмы-деструкторы нефти в условиях пустыни, было установлено преобладание в ризосфере пустынных растений микромицетов и бактерий родов *Arthrobacter* [4].

Вторая группа объяснений эффекта повышения растениями бактериальной деструкции ксенобиотиков, связана с улучшением условий для почвенных бактерий и стимуляцией микробной активности. Данные объяснения слабо обоснованы экспериментальными данными и носят больше теоретический характер [3].

1. Предполагается, что поступающие от растений легкодоступные вещества увеличивают разложение органических загрязнителей микроорганизмами за счет их кометаболизма.

2. В выделениях могут содержаться кофакторы ферментов, необходимых для окисления поллютантов.

3. В прикорневой зоне почва имеет большую влажность из-за корневых выделений.

4. Растения могут повышать аэрацию почвы.

5. Растения влияют на содержание доступного фосфора и азота в почве.

6. Достаточно часто в качестве объяснения повышения очистки почвы от гидрофобных загрязнителей фигурирует выделение растениями поверхностно-активных веществ. По нашим данным, эмульгирующая активность в водных вытяжках из ризосферы примерно в 5–10 раз больше, чем из почвы без растений, что указывает на продукцию биогенных поверхностно-активных веществ микробно-растительными системами.

В ряде работ отмечено отрицательное влияние растений на убыль углеводородов и компонентов нефти в почве. В этом случае приводятся следующие объяснения [3]:

1. Снижение деструктивной активности микроорганизмов обусловлено каталитической репрессией из-за поступления легкодоступных соединений от растений с корневыми выделениями.

2. В случае, когда в конце опыта в почве с растениями концентрация загрязнителя меньше, чем в почве без растений, а в ризосфере больше, данный эффект объясняется возникающим током воды из-за ее усвоения растениями, вследствие чего происходит миграция веществ загрязнителей и накопление их в прикорневой зоне.

Таким образом, несмотря на большое количество работ, не вполне решен вопрос о степени влияния растений на микробиологическую деструкцию ксенобиотиков в почве. Для решения данной проблемы нами было проведено исследование воздействия разного количества растений в почве на деструкцию в ней углеводородов фенантрена и октадекана.

Установлено, что растения по-разному влияют на скорость деструкции фенантрена и октадекана (рис. 3). Скорость деструкции фенантрена повышалась с увеличением корневой биомассы в почве и была максимальна в ризосферной зоне растений, в ризосфере клевера она была больше, чем в почве без растений в 15,6 раза, в ризосфере овсяницы – в 12,1 раза. Скорость деструкции октадекана возрастала с увеличением корневой биомассы в

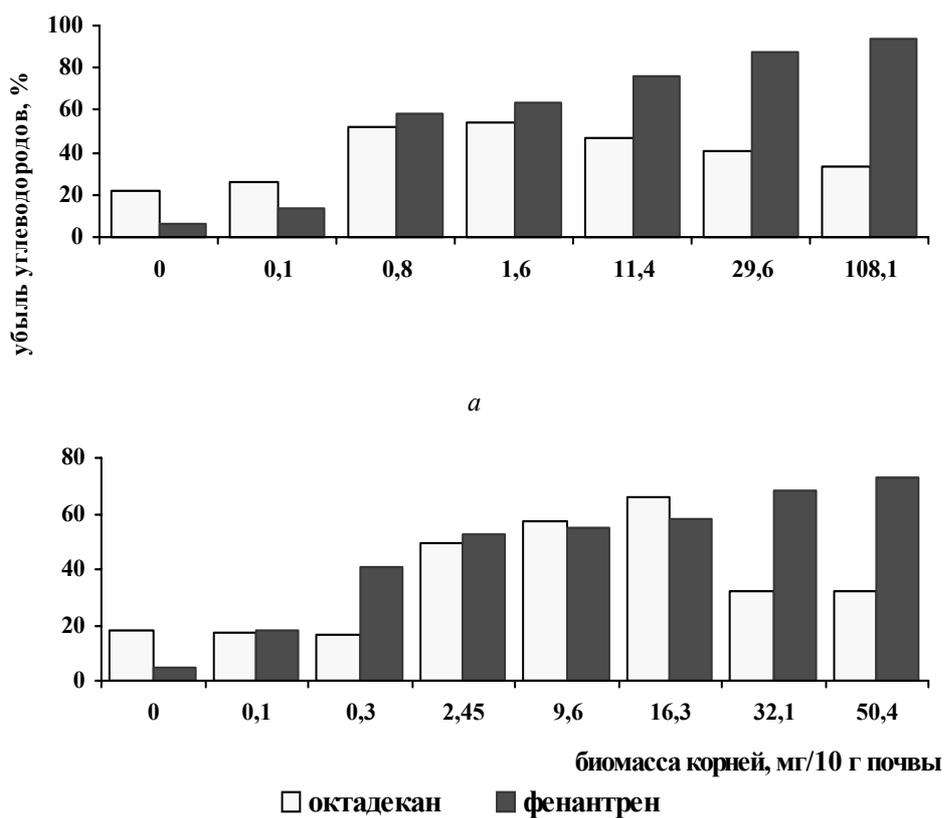


Рис. 3. Влияние растений клевера лугового (а) и овсяницы луговой (б) на деструкцию углеводов – октадекана и фенантрена – в почве

почве в варианте с клевером до уровня 0,8–11,4 мг / 10 г почвы, и в варианте с овсяницей – до 2,5–16,3 мг / 10 г почвы. В первом случае она была выше, чем в почве без растений, в 2,2–2,5 раза, во втором – в 2,3–3,0 раза. С дальнейшим увеличением биомассы корней растений происходило некоторое снижение скорости деструкции октадекана, в ризосфере она была выше, чем в почве без растений, только в 1,5 раза.

С увеличением корневой биомассы повышалась численность бактерий-деструкторов углеводов в почве. Максимальная численность бактерий-деструкторов октадекана наблюдалась в ризосфере растений, так, в ризосфере клевера она была больше в 12,2 и в ризосфере овсяницы – в 10,8 раза, чем в почве без растений. А численность бактерий-деструкторов фенантрена – в 6,4 и в 2,0 раза соответственно.

Наличие растений привело также к изменению преобладающих видов бакте-

рий-деструкторов углеводов. С увеличением корневой биомассы растений повышалась численность бактерий наиболее сходных по последовательности гена 16S рРНК с видами: *Xanthomonas translucens*, *Kaistia terrae* (в вариантах с высадкой клевера), *Acinetobacter gyllenbergii*, *Flavobacterium ginsenosidimutans*, *Brevundimonas bullata* (в вариантах с высадкой овсяницы), *Novosphingobium resinovorum* и видов рода *Pseudomonas* (во всех вариантах с высадкой других растений). Уменьшается численность бактерий, наиболее сходных по последовательности гена 16S рРНК, с видами: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter insolitus* и видов рода *Bacillus*.

Таким образом, растения повышают количество микроорганизмов, разлагающих компоненты нефти в почве, изменяют структуру сообщества почвенных микроорганизмов, влияют на почвенные условия и вследствие этого усиливают ак-

тивность почвенных микроорганизмов в условиях загрязнения. Данный эффект влияния растений на почвенные микроорганизмы может быть использован для создания новых биотехнологических методов очистки загрязненных почв, основанных на управлении с помощью растений микробными популяциями в почве.

Библиографический список

1. *Бороников В.Д., Шеховцов П.В. Шеховцов В.П.* Способ ускоренной рекультивации почвы, загрязненной нефтепродуктами. Патент РФ № 2066944 С1. 1996.
2. *Корте Ф.* Экологическая химия. – М.: Мир, 1997. – 396 с.
3. *Назаров А.В., Иларионов С.А.* Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации // Биотехнология. – 2005. – № 5. – С. 54–62.
4. Нефтезагрязненные биогеоценозы (Процессы образования, научные основы восстановления, медико-экологические проблемы) / *А.А. Оборин, В.Т. Хмурчик, С.А. Иларионов, М.Ю. Маркарова, А.В. Назаров* – Пермь: изд-во Пермского гос. ун-та; изд-во Пермского гос. техн. ун-та, 2008. – 511 с.
5. Экология микроорганизмов. – М.: изд. центр «Академия», 2004. – 272 с.
6. A global model of natural volatile organic compound emissions / *Guenther A.* [et al.] // J. Geophys. Res. – 1995. – Vol. 100. – P. 8873–8892.
7. *Radwan S., Sorkhoh N., El-Nemr I.* Oil biodegradation around roots // Nature. 1995. – Vol. 376. – P. 302.