

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ТЮМЕНСКИЙ ИНДУСТРИАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Ознобихина Анастасия Олеговна

**ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ЖИЗНДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ФИТОМЕЛИОРАНТОВ И КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ НА
ВЫЩЕЛОЧЕННОМ ЧЕРНОЗЕМЕ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ
ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ**

03.02.08 - экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Тюмень - 2021

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет» на кафедре техносферной безопасности

**Научный
руководитель:**

доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры техносферной безопасности ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет»
Скипин Леонид Николаевич

**Официальные
оппоненты:**

Минкина Татьяна Михайловна,
доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой почвоведения и оценки земельных ресурсов ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»

Лаптева Елена Морисовна,
кандидат биологических наук, доцент, заведующая отделом почвоведения, руководитель группы биологии почв и проблем природовосстановления Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН – обособленное подразделение ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения РАН»

**Ведущая
организация:**

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Защита состоится «15» марта 2022 г. в 13-30 на заседании диссертационного совета Д 999.114.02 при ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья» по адресу: 625003, г. Тюмень, ул. Республики дом 7.
Телефон/факс: 8(3452) 29-01-52; e-mail: dissgausz@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного аграрного университета Северного Зауралья и на сайте университета: <http://www.tsaa.ru>

Автореферат разослан: «12» января 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор с.-х. наук

Турсумбекова Галина Шалкаровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Сосредоточение на Урале и в Западной Сибири значительных площадей полезных ископаемых обуславливает появление районов добычи и переработки нефти, газа, угля, руд железных и цветных металлов. Почвенный покров подвергается мощнейшему воздействию химической, металлургической промышленности, теплоэнергетических комплексов машиностроительных и градообразующих предприятий, сельского хозяйства (Берлякова и др., 2011; Артамонова, 2000, Лаптева, 2015). Среди накапливающихся в почвах загрязнителей особую тревогу, как наиболее экологически опасные и стойкие, вызывают тяжелые металлы (Гусейнов, 2001, Минкина, 2015).

Проблема содержания микроэлементов и тяжелых металлов в западносибирских черноземных и серых лесных почвах, миграция их по цепям питания живых организмов изучена в работах Л.Г. Мошаровой (1969); В.К. Бахнова (1971); Б.А. Скуковского (1978); В.Б. Ильина (1973, 1999, 2001, 2012); Ю.И. Ермохина, А.В. Синдиревой, Н.К. Трубиной (2002); В.М. Красницкого (2002), А.И. Сысо (2007).

На сегодняшний день возможность возделывания полевых культур на загрязненных тяжелыми металлами территориях привлекает все больший интерес со стороны исследователей и является особенно актуальной. В условиях повышенного содержания металлов в почве необходим поиск высокоэффективных методов оптимизации адаптивных свойств растений и получения сельскохозяйственной продукции за счет внедрения инновационных экологически безопасных и рентабельных биометодов и биотехнологий окультуривания антропогенно-загрязненных зон, к которым можно отнести применение фитомелиорантов, использование микробных препаратов, ремедиацию нарушенных земель природными минеральными сорбентами.

Цель исследований – оценка параметров жизнедеятельности донника желтого, люцерны посевной и их симбионтов на выщелоченном черноземе при загрязнении тяжелыми металлами в сочетании с природными минеральными сорбентами.

Задачи исследований:

1. Определить энергию прорастания и лабораторную всхожесть семян донника желтого и люцерны посевной при действии солей тяжелых металлов;
2. Выявить пороговые и летальные дозы солей свинца, кадмия, цинка и меди для клубеньковых бактерий – симбионтов донника и люцерны;
3. Изучить влияние солей свинца, кадмия, цинка и меди в сочетании с природными минеральными сорбентами (цеолитом, глауконитом, диатомитом) на продуктивность бобовых культур, накопление металлов растениями, интенсивность формирования клубеньков на черноземе выщелоченном;
4. Определить условно фоновые концентрации микроэлементов в верхнем пахотном горизонте лесостепной зоны юга Тюменской области;

5. Выявить особенности содержания подвижных форм тяжелых металлов в черноземе выщелоченном в зависимости от используемых минеральных сорбентов и культур-фитомелиорантов;

6. Установить корреляционные связи между концентрацией тяжелых металлов в почве и их содержанием в растениях фитомелиорантах, корреляции с показателями продуктивности культур и формированием клубеньков.

Научная новизна. Впервые для условий южной лесостепной зоны проведено изучение возможностей возделывания полевых бобовых культур донника желтого (*Melilotus officinalis*) и люцерны посевной (*Medicago sativa*) на черноземе выщелоченном при загрязнении тяжелыми металлами (свинец, кадмий, цинк и медь). Выявлена роль экологически безопасных методов, включающих ремедиацию природными минеральными сорбентами и инокуляцию семян бактериальными препаратами. Установлены закономерности накопления тяжелых металлов бобовыми растениями, формирование роста, вегетативной массы, корневых клубеньков в условиях почвенного загрязнения соединениями металлов и в сочетании с цеолитом, глауконитом, диатомитом.

Теоретическая значимость работы. Полученные в ходе диссертационного исследования результаты расширяют и дополняют современные научные подходы к окультуриванию антропогенно-загрязненных территорий. Исследованиями экспериментально обоснована целесообразность применения растений-фитомелиорантов и клубеньковых бактерий в комплексе с природными сорбентами на загрязненном тяжелыми металлами черноземе выщелоченном.

Предлагаемые решения позволяют представить новую оценку эффективности кремниевых минералов в почве в сочетании со свинцом, цинком и кадмием. Установленные в результате исследований методы возделывания бобовых трав в присутствии повышенного содержания тяжелых металлов являются перспективной инновацией, позволяют сохранять продуктивность, улучшать качество фитомассы, снижать содержание и токсический эффект тяжелых металлов в почвенном покрове, имеют потенциал восстановления почвенного плодородия за счет симбиотического азота.

Практическая значимость работы. Результаты исследований используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет» при подготовке бакалавров подисциплинам «Экология» и «Науки о Земле». Рекомендации, разработанные в результате исследований, могут быть использованы при планировании и проведении рекультивационных мероприятий в условиях южной лесостепной зоны.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Особенности жизнеспособности семян донника желтого и люцерны посевной, а также роста клубеньковых бактерий обусловлены различной концентрацией солей тяжелых металлов в питательной среде.

2. Изменение биометрических параметров, накопление элементов в вегетативной массе и формирование клубеньков на корнях бобовых растений обусловлено наличием почвенного загрязнения в отдельности и в сочетании с

природными сорбентами, зависит от вида кремниевого минерала и фитомелиоративных особенностей возделываемых трав.

3. Использование фитомелиорантов и клубеньковых бактерий совместно с природными сорбентами на загрязненном тяжелыми металлами черноземе выщелоченном снижает фитотоксичность почвы.

Апробация работы и публикации. Результаты исследований были представлены на Международной научно-практической конференции «Проблемы управления речными бассейнами при освоении Сибири и Арктики в контексте глобального изменения климата планеты в XXI веке» (Тюмень, 2017); Международной научно-практической конференции «Новые технологии нефтегазовому региону» (Тюмень, 2017); Всероссийской научной конференции «Современные научно-практические решения в АПК» (Тюмень, 2017).

По материалам диссертационной работы опубликовано 12 печатных работ, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК РФ – 3, в изданиях индексируемых Scopus – 3.

Структура работы: Диссертационная работа представлена на 154 страницах, включает 14 таблиц, 29 рисунков, 5 приложений. В составе работы содержится введение, 6 глав, заключение, практические рекомендации, список литературы, приложения.

Личный вклад автора: в основу диссертационной работы положены собственные самостоятельные исследования автора в рамках инициативной НИОКР АААА-А19-119031590006-1. Проведение лабораторных опытов и вегетационно-полевых экспериментов, подготовка публикаций, апробация результатов исследования и написание текста диссертации проведены автором лично.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ В СИСТЕМЕ «ПОЧВА-РАСТЕНИЕ», ПУТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ ПЛОДОРОДИЯ И ОПТИМИЗАЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ НА ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЕ

В главе проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы об основных источниках поступления тяжелых металлов в окружающую среду, проблемах загрязнения почвенного покрова, особенностях миграции элементов в системе «почва-растение» и по цепям питания, проведен анализ изменения физико-химических характеристик почв под воздействием неблагоприятных антропогенных факторов. Изучена роль фиторемедиационных методов, микроорганизмов и природных минеральных ресурсов при очистке почв от тяжелых металлов, детоксикации различных соединений, а также повышении почвенного плодородия и продуктивности сельскохозяйственных культур.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования были многолетние бобовые травы люцерна посевная (*Medicago sativa*) и донник желтый (*Melilotus officinalis*), симбиотические клубеньковые микроорганизмы *Rhizobium meliloti*.

В методологическую основу исследований положен комплекс лабораторных экспериментов по изучению численности клубеньковых бактерий, определению энергии прорастания и лабораторной всхожести семян многолетних бобовых трав в чашках Петри на средах, загрязненных солями тяжелых металлов нитратом свинца $Pb(NO_3)_2$, нитратом кадмия $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, сульфатом меди $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, сульфатом цинка $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$. Оценку токсичности солей тяжелых металлов на тест-объекты проводили в соответствии со схемой исследования:

Опыт 1 – Влияние тяжелых металлов на энергию прорастания и всхожесть семян

1.1. Семена донника желтого (<i>Melilotus officinalis</i>)	1) Фон (дистиллиров. вода)
	2) Фон + свинец содержание $Pb(NO_3)_2$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
	3) Фон + кадмий содержание $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
	4) Фон + цинк содержание $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
	5) Фон + медь содержание $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
1.2 Семена люцерны посевной (<i>Medicago sativa</i>)	

Опыт 2 - Влияние тяжелых металлов на рост колоний клубеньковых бактерий

2.1 Клубеньковые бактерии <i>Rhizobium meliloti</i> штамм донника	1) Фон (бобовый агар без солей тяжелых металлов)
	2) Фон + свинец содержание $Pb(NO_3)_2$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
	3) Фон + кадмий содержание $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
	4) Фон + цинк содержание $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
	5) Фон + медь содержание $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ %: 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 6
2.2 Клубеньковые бактерии <i>Rhizobium meliloti</i> штамм люцерны	

Семена подвергали предварительному охлаждению при пониженной температуре (от 5°C до 10°C), затем проращивали при постоянной температуре +20°C на фильтровальной бумаге, смоченной водным раствором соли тяжелого металла. Энергию прорастания определяли на 4 сутки, всхожесть семян донника на 10 сутки, люцерны на 7 сутки в соответствии с ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести.

Посев клубеньковых бактерий проводили на бобовый агар из ризоторфина с десятикратным разведением. Клубеньковые бактерии выращивали в термостате при температуре 26°. Количество колоний подсчитывали на 4-й день. В опытных вариантах концентрацию солей тяжелых металлов доводили до заданных параметров в соответствии со схемой исследований, в контрольный вариант соли не вносили.

Возделывание кормовых бобовых культур на загрязненных почвах проводилось в вегетационно-полевых опытах согласно методикам Б.А. Доспехова (1985) и Г.С. Посыпанова (1991). Почвенные модели создавались в пленочных сосудах вместимостью 5 кг почвы, с отверстием в нижней части, предварительно в почву вносились легкорастворимые соли тяжелых металлов (свинец, кадмий, цинк – кратно 6 ПДК, медь – кратно 10 ПДК), природные минеральные сорбенты (цеолит, диатомит, глауконит) и проводилась предпосевная инокуляция семян

бактериальным препаратом ризоторфин (штамм 415 – для люцерны, штамм 282 – для донника).

Схемы вегетационно-полевых исследований:

Опыт 1 - Выращивание <i>Melilotus officinalis</i> (инокуляция штамм 282)	1. Контроль (почва без солей ТМ, без сорбентов, семена не инокулированы ризоторфином)
	2. Контроль + ризоторфин
	3. Свинец+ ризоторфин
	4. Свинец + цеолит+ ризоторфин
	5. Свинец + диатомит+ ризоторфин
	6. Свинец + глауконит+ ризоторфин
	7. Кадмий+ ризоторфин
	8. Кадмий +цеолит+ ризоторфин
	9. Кадмий + диатомит+ ризоторфин
	10. Кадмий + глауконит+ ризоторфин
	11. Цинк+ ризоторфин
	12. Цинк + цеолит+ ризоторфин
	13. Цинк + диатомит+ ризоторфин
	14. Цинк + глауконит+ ризоторфин
	15. Медь+ ризоторфин
	16. Медь + цеолит+ ризоторфин
	17. Медь + диатомит+ ризоторфин
	18. Медь + глауконит+ ризоторфин

Район проведения исследований расположен в южной лесостепной зоне Тюменской области. Почва опытного участка представлена черноземом выщелоченным среднемощным, многогумусным, тяжелосуглинистым. Содержание гумуса в пахотном горизонте по И.В. Тюрину очень высокое – 11,5%; реакция среды близка к нейтральной ($\text{pH}_{\text{KCl}}=5,8$) (Ганжара и др., 2002); содержание нитратного азота $7,80\pm2,34$ мг/кг – очень низкое (Кочергин, 1965), уровень подвижного фосфора 777 ± 93 мг/кг и обменного калия 323 ± 32 мг/кг по Чирикову – очень высокий. Концентрация подвижных форм микроэлементов: цинка 1,92 мг/кг – среднеобеспеченная (Пейве, 1961), меди 0,18 мг/кг – очень низкое (Гамзиков, 2018; Ганжара и др., 2002). Количество свинца и кадмия ниже МДУ.

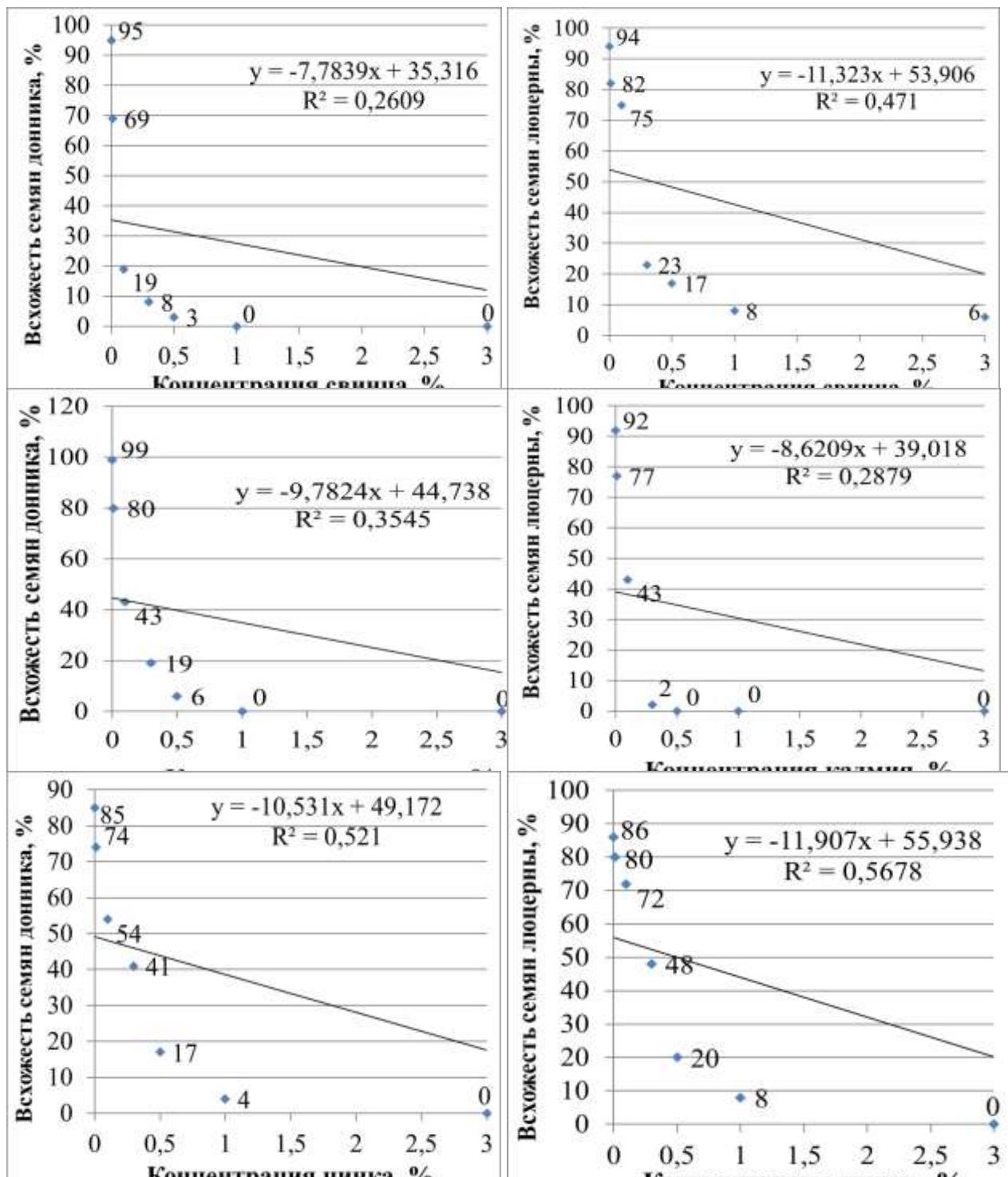
Не изучаемые при проведении эксперимента факторы поддерживались на уровне оптимальных. Эффективность использования минеральных сорбентов и ризоторфина на загрязненных почвах оценивали по результатам биометрических измерений высоты, массы растений, наличию и количеству клубеньков, по содержанию тяжелых металлов в почвенных образцах и зеленой массе растений. Химический анализ образцов проводился атомно-абсорбционным методом в аккредитованной испытательной лаборатории.

Метеорологические условия за годы вегетационно-полевых исследований (2017-2019 гг.) в период перезимовки и возобновления вегетации многолетних бобовых трав были достаточно благоприятные по количеству тепла и величине выпавших осадков, но с контрастными засухами в летний период 2017 г.

ГЛАВА 3. ДЕЙСТВИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ФИТОМЕЛИОРАНТОВ И РОСТ КОЛОНИЙ ИХ СИМБИОНТОВ

3.1. Влияние солей тяжелых металлов на прорастание семян донника желтого и люцерны посевной

Влияние солей металлов на всхожесть семян донника и люцерны не однозначно. Для семян донника наибольшее ингибирование всхожести отмечено в средах с солями свинца и кадмия, для люцерны – кадмия (рис. 1).



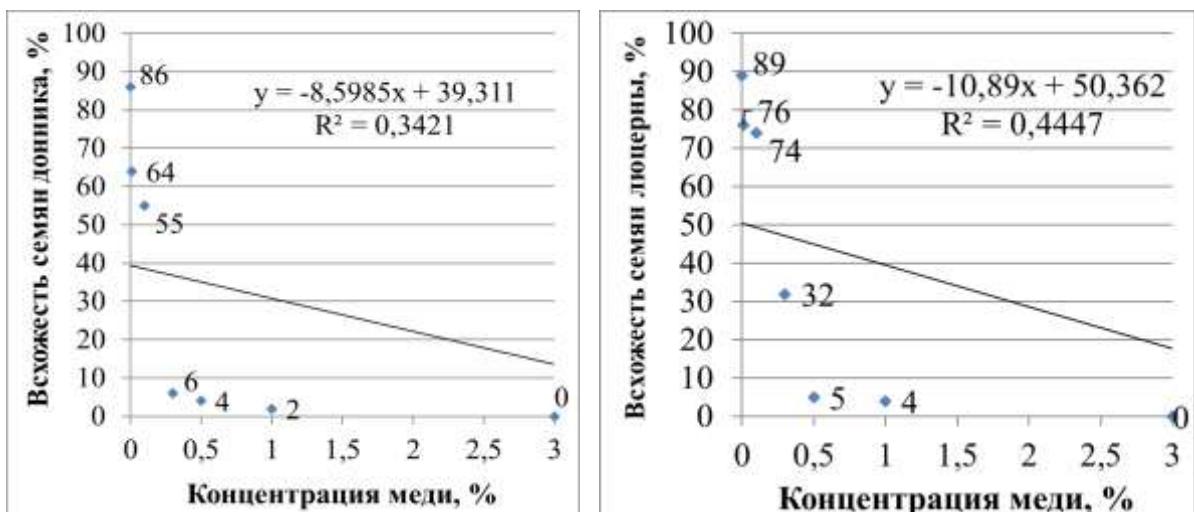


Рис. 1 – Влияние солей тяжелых металлов на всхожесть семян бобовых трав

Снижение всхожести семян донника по отношению к контролю в 0,01% среде составило: 11% – при действии соли цинка, 19% – соли кадмия, 22% – соли меди, 26% – соли свинца. В растворе 0,1% концентрации солей металлов данный диапазон варьировал: 31% – соли меди и цинка, 56% – соль кадмия, 76% – соль свинца. Ответная реакция семян люцерны на токсичность среды также выражалась уменьшением роста при увеличении дозы металла: в растворах 0,01% соли металлов ингибирование всхожести составило 6-15%. Увеличение дозы солей до 0,1% концентрации снижало всхожесть на 14-19% – при действии цинка, меди и свинца, до 49% – кадмия. В средах с 0,3-0,5-1% концентрацией солей металлов показатели всхожести были ниже более чем на 50% по всем изучаемым соединениям.

3.2. Жизнеспособность колоний клубеньковых бактерий *Rhizobium meliloti* в условиях загрязнения питательной среды тяжелыми металлами

Обильный рост колоний клубеньковых бактерий как донника, так и люцерны наблюдался при добавлении в среду соли цинка в концентрации 0,01% и 0,1% (превышение над контролем составило до 75%). Соли свинца, кадмия и меди во всех исследуемых дозах ингибировали жизнеспособность клубеньковых бактерий (рис. 2). Градацию токсического действия металлов можно представить в порядке убывания следующим образом: для штамма донника: кадмий > медь > свинец > цинк, для штамма люцерны: кадмий > свинец > медь > цинк.

Таким образом, с увеличением концентрации в среде солей свинца, кадмия, цинка и меди наблюдалось снижение прорастания семян донника и люцерны, а также роста клубеньковых бактерий. Значения коэффициента корреляции между концентрацией соединений в среде и всхожестью семян бобовых трав находились в диапазоне от $r=-0,50$ до $r=-0,75$, для роста бактерий данные значения составили от $r=-0,34$ до $r=-0,67$, что говорит об обратной силе связи. Наибольшие показатели прорастания семян наблюдались в 0,01%-растворе солей исследуемых металлов, однако высокий рост бактерий отмечен только в 0,01%-растворе соли цинка, при добавлении в среды солей меди, свинца и кадмия отмечено угнетение жизнеспособности клубеньковых бактерий.

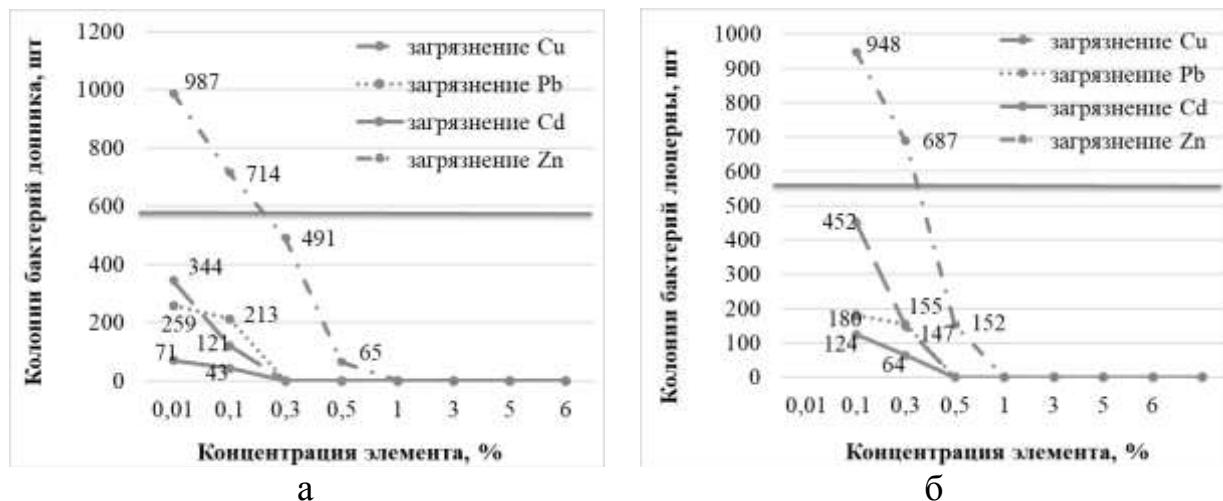


Рис. 2 – Количество клубеньковых бактерий на средах с соединениями тяжелых металлов (а - штамм донника 282, б - штамм люцерны 415)

В результате лабораторных экспериментов нами не отмечено зависимости между действием металлов на всхожесть семян бобовых растений и аналогичного влияния на жизнеспособность специфичных штаммов бактерий.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФИТОБИОРЕМЕДИАЦИОННЫХ РАБОТ НА ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ПОЧВАХ

4.1. Эколого-химическая оценка содержания тяжелых металлов в растениях

В первый год жизни отмечено наибольшее количество свинца, кадмия и цинка в растительной массе исследуемых трав, в последующие годы содержание элементов снижается. В образцах, загрязненных солями металлов без использования сорбентов, уровень микроэлементов в растениях фитомелиорантов был выше вариантов с цеолитом, диатомитом и глауконитом.

Наибольший уровень накопления свинца в зеленой массе отмечен у донника в 2017 г., у люцерны количество элемента во все годы исследований было ниже установленного норматива. Внесение совместно со свинцом цеолита способствовало снижению концентрации элемента в растениях донника до 0,99 МДУ, глауконита – до 1,24 МДУ, диатомита – до 1,3 МДУ при контролльном варианте (без сорбентов) – 1,46 МДУ.

Кадмий в большей мере накапливался люцерной до 2,37 МДУ – в 2017 г., до 2,07 МДУ – в 2018 г., на третий год качество фитомассы соответствовало нормативу по всем вариантам, где концентрация составляла 0,09-0,21 мг/кг. У донника количество данного элемента составило до 2,13 МДУ – в 2017 г., до 1,5 МДУ – в 2018 г. Внесение глауконита в почву незначительно отразилось на снижении содержания кадмия в растениях обеих культур (1,5-1,97 МДУ), цеолит проявил свои мелиоративные свойства в образцах с донником (0,47-0,83 МДУ), однако данной закономерности не наблюдалось с люцерной (1,73-2,2 МДУ за аналогичный период), диатомит способствовал наименьшему накоплению металла растениями (0,6-1,16 МДУ) (рис. 3).

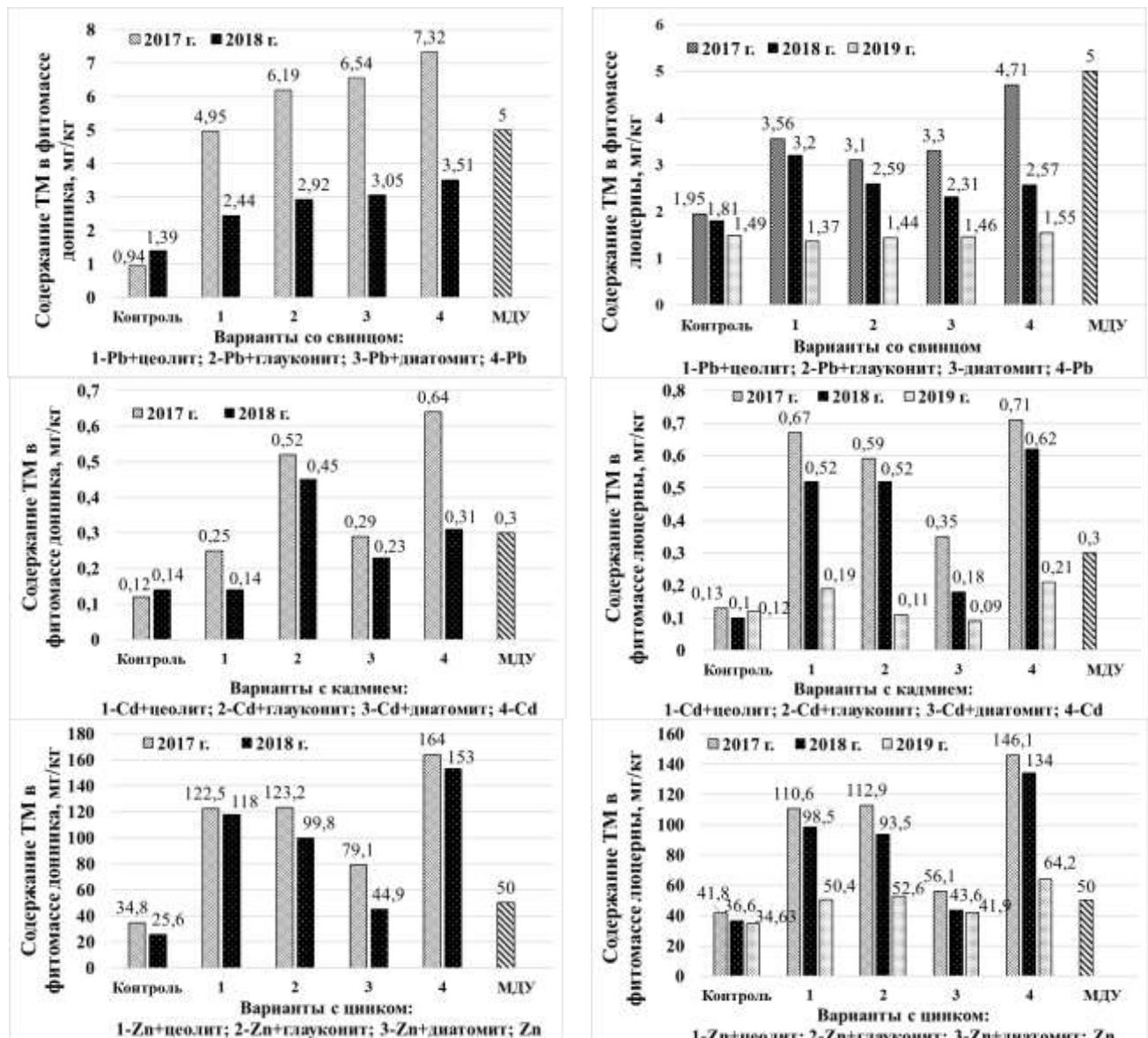


Рис. 3 – Содержание тяжелых металлов в зеленой массе бобовых трав

Содержание цинка в опытных растениях варьировало в широком диапазоне от 41,9 мг/кг до 164 мг/кг при МДУ=50 мг/кг. Наибольшее его количество накапливалось донником 1,6-3,3 МДУ в 2017 г. и 0,9-3,06 МДУ в 2018 г., у люцерны данные показатели соответствовали 1,1-2,9 МДУ в 2017 г. и 0,9-2,68 МДУ в 2018 г. В 2019 г. количество цинка в фитомассе люцерны снизилось, выше норматива оставались варианты отдельного внесения солей элемента – 1,3 МДУ, образец Zn+цеолит – 1,01 МДУ и Zn+глауконит – 1,05 МДУ.

Накопление меди в вегетативной массе растений было незначительным и находилось в диапазоне 3,01-6,26 мг/кг при МДУ=30 мг/кг.

Результатами химического анализа вегетативной массы растений была подтверждена ранее выявленная в лабораторных условиях чувствительность донника к свинцу, люцерны к кадмию: тождественно снижению всхожести семян происходит увеличение накопления металлов растениями.

4.2. Оценка морфометрических показателей вегетативной массы бобовых трав при загрязнении почв соединениями тяжелых металлов в сочетании с сорбентами

4.2.1. Рост вегетативной массы донника при действии стресс-фактора

Внесение солей тяжелых металлов в чернозем выщелоченный за годы исследований не влияло заметно на снижение высоты растений донника большинства исследуемых вариантов. Коэффициент корреляции значительно варьировал: слабая корреляционная связь установлена в вариантах с цинком ($r=0,21$) и медью ($r=0,11$), средняя – в образцах с кадмием ($r=0,32$), высокая – со свинцом ($r=0,71$). Различия показателей высоты по годам исследований обусловлены биологическими особенностями вида: 33,3-49,5 см – высота опытных вариантов в 2017 г. (при 35,6 см на контроле), 102,4-131,0 см – в 2018 г. (при 104,8 см в контроле). Снижение высоты на 6,5% по отношению к контролю наблюдалось в 2017 г. лишь в образце Pb+диатомит.

Биомасса, в отличие от высоты растений, в большей степени реагировала на изменение почвенной среды. Установлена отрицательная корреляционная связь: в среднем за 2 года снижение по отношению к контролю наблюдалось в вариантах со свинцом на 13,3-58,5% ($r=-0,73$ – сильная), кадмием на 16,7-33,7% ($r=-0,14$ – слабая), цинком на 1,2-7,6% ($r=-0,76$ – сильная), медью на 4,8-5,5% ($r=-0,33$ – средняя).

4.2.2. Рост вегетативной массы люцерны при действии стресс-фактора

Высота растений люцерны, в отличие от донника, отличалась от контроля: в первый год ее значения варьировали в интервале 28,3-35,5 см (31,5 на контроле), во второй год 65,7-79,2 (76,3 на контроле), в третий год 73,6-79,4 (75,4 на контроле) – наибольшее отклонение в сторону уменьшения отмечалось в первый год в вариантах с добавлением солей свинца и кадмия (10,2% и 14,3% соответственно). Коэффициент корреляции между содержанием соединений металлов в почве и высотой растений за исследуемый период следующий: $r=-0,63$ – в образцах со свинцом (связь отрицательная средняя), $r=-0,93$ – с кадмием (связь отрицательная сильная), с цинком и медью связь отсутствовала $r=0,04$ и $r=0,03$ соответственно.

Биомасса люцерны аналогично высоте в большей степени снижалась в первый и второй год исследований, в среднем за данный период при внесении кадмия на 6,5-35,05%, свинца – на 3,25-29,6%, цинка – на 3,8-7,6%, меди – до 2%. На третий год снижение биомассы люцерны практически не наблюдалось – в единичных вариантах от 0,9% до 2,1%. Расчет корреляционной связи показал отрицательную среднюю зависимость в средах с медью, свинцом и цинком ($r=-0,35$, $r=-0,56$ и $r=0,64$ соответственно), отрицательную сильную – с кадмием ($r=-0,90$).

Применение сорбентов, как в посевах донника, так и люцерны, нивелировало отрицательное действие тяжелых металлов и способствовало росту растений.

4.3 Клубенькообразование на корнях донника и люцерны при действии стресс-фактора

Формирование клубеньков в изучаемых условиях наиболее интенсивно протекало при участии промышленных штаммов клубеньковых бактерий (282 – для донника, 415 – для люцерны), где клубенькообразование превосходило фоновый вариант на 52% и 63% у донника и люцерны, соответственно. Кроме того, большую референтность на образование клубеньков оказывали медь и цинк, где показатели, были выше контроля в среднем на 1,3% и 7,9% – у люцерны, на 3% и 11% – у донника. Наибольшее подавление роста клубеньков по отношению к контролю отмечено у донника в присутствии кадмия (в среднем на 22%), у люцерны при наличии в средах свинца (в среднем на 26,3%). Между ростом клубеньков и содержанием в почве токсикантов установлена обратная корреляционная зависимость разной тесноты: высокая связь в присутствии свинца, кадмия и меди (соответственно, у донника $r=-0,92$, $r=-0,81$, $r=-0,93$; у люцерны $r=-0,97$, $r=-0,79$, $r=-0,97$), средняя – в присутствии цинка ($r=-0,70$ – у донника и $r=-0,49$ – у люцерны).

4.4. Сравнительный анализ устойчивости бобовых трав и их симбионтов к тяжелым металлам

Проведение лабораторных исследований показало высокую активность водных растворов солей используемых металлов, как на всхожесть семян фитомелирантов, так и на специфичные штаммы клубеньковых бактерий. Жизнеспособность семян изучаемых культур прослеживалась в более высоких дозировках металлов, чем их клубеньковых бактерий, однако отмечены различия показателей в зависимости от природы элемента и увеличения концентрации (содержание 1% цинка и меди стало предельным для всхожести семян обеих культур; по свинцу пороговым оказался 0,5% и 3% раствор соответственно у донника и люцерны; по кадмию – 0,5% у донника и 0,3% у люцерны).

В вегетационных экспериментах среди изучаемых металлов в зеленой массе бобовых трав в большей степени накапливался цинк ($\bar{X}=1,75$ МДУ и 1,93 МДУ у люцерны и донника, соответственно). При этом он меньше всего ингибировал развитие биомассы (у донника на 1,2-7,6%, у люцерны на 1,5-8,9%). Данная закономерность связана с биологической ролью цинка, как микроэлемента. Следующим по величине накопления был кадмий ($\bar{X}=1,04$ МДУ и 1,46 МДУ, соответственно, у донника и люцерны), где снижение роста биомассы закономерно составило 33,7%-34,8%). Свинец накапливался больше донником ($\bar{X}=0,78$ МДУ), в меньшей степени люцерной ($\bar{X}=0,58$ МДУ).

Высота растений не показала существенных отклонений в зависимости от природы соединений изучаемых металлов, в среднем у донника в порядке убывания она составила: Cd (77,0 см) \approx Cu (73,3 см) \approx Pb (73,2 см) \approx Zn (72,9 см), у люцерны соответственно: Cu (54,9 см) \approx Zn (54,8 см) \approx Pb (53,3 см) \approx Cd (51,8 см).

Усредненные характеристики биомассы растений находились в следующем интервале: у донника Cu (208,0 г) \approx Cd (207,4 г) $>$ Zn (199,7 г) $>$ Pb (149,7 г), у люцерны Cu (98,3 г) $>$ Zn (94,4 г) $>$ Cd (91,8 г) $>$ Pb (87,0 г). В процентном

соотношении отклонение биомассы по отношению к контролю было следующим: у донника Cu (-0,04%) \approx Cd (-0,3%) $<$ Zn (-4,03%) $<$ Pb (-28,3%), у люцерны Cu (+0,86%) $<$ Zn (-3,16%) $<$ Cd (-5,79%) $<$ Pb (-10,78%).

Формирование клубеньков снижалось при внесении солей свинца у донника на 17%, у люцерны на 26,3%, в моделях с солью кадмия на 22% и 15,8%, соответственно. В вариантах с солями цинка и меди рост клубеньков отмечен наиболее высокими показателями: количество клубеньков в среднем превосходило контрольный вариант при внесении в питательную среду солей цинка на 11% – у донника, на 7,9% – у люцерны, с соединениями меди на 3% и 1,3%, соответственно.

5. СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВЕ

5.1. Тяжелые металлы в пахотных почвах районов Тюменской области

Для комплексной экологической оценки содержания подвижных форм тяжелых металлов в почве изучаемой территории, а также в связи с отсутствием регионального фона определены средние концентрации элементов, условно принятые за фон: свинец – 0,64 мг/кг, цинк – 1,10 мг/кг, медь – 0,17 мг/кг, кадмий – 0,037 мг/кг.

5.2. Тяжелые металлы в почве опытных образцов

Внесение солей тяжелых металлов в чернозем выщелоченный привело к увеличению в почве содержания подвижного свинца по отношению к контрольному показателю (0,59-0,97 мг/кг) в первый год в диапазоне 3,13-6,52 мг/кг – под донником, 1,82-5,05 мг/кг – под люцерной, во второй год 1,84-4,53 мг/кг и 1,49-3,06 мг/кг соответственно. Концентрация кадмия также отличалась от контроля (0,03-0,06 мг/кг) и составила в первый год 0,12-0,55 мг/кг – под донником, 0,05-0,43 мг/кг – под люцерной, во второй год 0,05-0,42 мг/кг и 0,04-0,18 мг/кг соответственно. Количество цинка варьировало в первый год 11,46-20,86 мг/кг – под донником, 15,1-24,3 мг/кг – под люцерной, во второй год, соответственно, 9,97-21,95 мг/кг и 13,4-20,8 мг/кг при контрольном значении 0,9-1,6 мг/кг. Содержание меди в первый год было наибольшим и составило 2,41-5,18 мг/кг – под донником, 2,05-4,16 мг/кг – под люцерной, в контроле 0,15-0,23 мг/кг. На третий год в посевах люцерны концентрация свинца и кадмия в почве заметно приблизилась к контролю, содержание цинка и меди также снизилось, однако в некоторых вариантах значительно было выше контрольных образцов.

Превышение норматива наблюдалось в следующих вариантах при внесении солей металлов в отдельности и в сочетании с сорбентами: под донником Pb+цеолит – 1,1 ПДК, отдельное внесение Pb – 1,08 ПДК, отдельное внесение Cd – 1,1 ОДК, Cu+диатомит – 1,2 ПДК, отдельное внесение Cu – 1,6 ПДК, Cu+цеолит – 1,7 ПДК, под люцерной отдельное внесение Zn – 1,0 ПДК, Cu+диатомит – 1,1 ПДК, Cu+цеолит – 1,3 ПДК. Среди изучаемых сорбентов при закреплении тяжелых металлов в почве наиболее эффективно по отношению к свинцу, кадмию и цинку проявили себя глауконит и диатомит.

5.3. Интенсивность накопления металлов из почвы растениями

Интенсивность накопления поллютантов надземными органами при одинаковых условиях произрастания можно представить следующим образом: к элементам интенсивного накопления культурами (КН = 5,5-7,2) относится цинк, что, очевидно, обусловлено физиологически значимой ролью микроэлемента для растений и высокой мобильность его в почве. Кроме того, у люцерны также интенсивно накапливался кадмий (КН = 5,4), однако для донника данный металл являлся элементом среднего накопления (КН = 1,99). В то же время, различия в накоплении прослеживались и между вариантами в зависимости от сочетания сорбента с металлом: вариабельность КН свинца составляла 0,9-2,1 (разница в 2,3 раза); кадмия 1,4-11,2 (разница в 8 раз); цинка 3,0-9,2 (разница в 3,1 раза); меди 0,6-4,4 (разница в 7,3 раза).

В среднем аккумулятивный индекс располагался в виде следующих убывающих рядов: Zn (донник желтый > люцерна посевная: цеолит > глауконит > ТМ > диатомит) > Cd (люцерна посевная > донник желтый : глауконит > диатомит > цеолит > ТМ) > Cu (люцерна посевная ≈ донник желтый : глауконит > диатомит > цеолит > ТМ) > Pb (люцерна посевная ≈ донник желтый : диатомит > глауконит > цеолит > ТМ).

6. ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВЕ, НАКОПЛЕНИЕМ ИХ В ВЕГЕТАТИВНОЙ МАССЕ РАСТЕНИЙ И ПРОДУКТИВНОСТЬЮ КУЛЬТУР

Соединения металлов, как в отдельности, так и в сочетаниях с сорбентами, оказывали влияние на элементы симбиоза, продуктивность растений и качество продукции. Содержание солей тяжелых металлов в почве влияло на накопление свинца и кадмия в фитомассе люцерны, где установлена прямая корреляционная связь ($r = 0,94$ и $r = 0,78$ соответственно), и отражалось на морфометрических характеристиках растений, что подтверждено обратной корреляционной связью, а именно на высоте ($r = -0,93$ и $r = -0,99$ соответственно), биомассе ($r = -0,70$ и $r = -0,96$), росте клубеньков ($r = -0,97$ и $r = -0,79$).

У донника при аналогичных вариантах солей свинца и кадмия отмечена высокая обратная корреляционная связь (соответственно, $r = -0,92$ и $r = -0,81$) между концентрацией тяжелых металлов в почве и количеством клубеньков, а повышение содержания токсикантов в зеленой массе весьма сильно угнетало продуктивность растений ($r = -0,93$ и $r = -0,99$ соответственно), которая в свою очередь коррелировала с высотой ($r = 0,46$ и $r = 0,35$).

Установлена высокая положительная взаимосвязь содержания цинка в почве и в фитомассе растений ($r = 0,97$ – у донника, $r = 0,93$ – у люцерны), и отрицательная средняя связь между загрязнением почвы данным микроэлементом и количеством клубеньков ($r = -0,70$ – у донника, $r = -0,50$ – у люцерны). С повышением концентрации цинка в фитомассе люцерны снижалась высота растений и вес вегетативной массы ($r = -0,85$ и $-0,86$ – связь высокая отрицательная), у донника снижения высоты не происходило ($r = 0,58$ – связь средняя положительная), а с показателями вегетативной массы связь вовсе отсутствовала ($r = 0,08$).

Между содержанием меди в почве и накоплением в фитомассе, а также ростом клубеньков, у донника отмечена слабая связь ($r = 0,12$ и $r = -0,17$ соответственно). В силу того, что растения в данных вариантах развивались достаточно благоприятно, корреляция между вегетативной массой и количеством клубеньков была высокой ($r = 0,82$). У люцерны повышение содержания меди в почве коррелировало с концентрацией элемента в растении ($r = 0,87$), однако в исследуемых вариантах количество микроэлемента было низким и практически не превосходило контрольных показателей. Положительная связь была между содержанием меди в почве и образованием клубеньков ($r = 0,53$), а также между высотой и биомассой растений ($r = 0,94$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований по оценке параметров жизнедеятельности донника желтого, люцерны посевной и их симбионтов на выщелоченном черноземе при загрязнении тяжелыми металлами в сочетании с природными минеральными сорбентами можно сделать следующие выводы:

1. Показатели лабораторной всхожести семян донника желтого и семян люцерны посевной значительно варьируют при проращивании в средах с солями тяжелых металлов. Показатели всхожести были выше у люцерны в средах с солями свинца (на 56%), цинка (на 18%) и меди (на 26%), у донника – кадмия (до 17%). Летальной для семян донника стала концентрация солей свинца и кадмия – 1%, меди и цинка – 3%, для семян люцерны – соли кадмия 0,5%, меди и цинка – 3%, свинца – 5%.

2. Снижение жизнеспособности колоний клубеньковых бактерий наблюдалось при добавлении в питательные среды соединений свинца, кадмия и меди во всех исследуемых концентрациях. В варианте 0,3% содержания солей и более высоких дозах колонии не развивались. При добавлении соединений цинка 0,01% и 0,1% рост колоний, как донника, так и люцерны отмечен выше контрольного значения в 1,2-1,8 раза.

3. В результате внесения солей тяжелых металлов в почву растения донника желтого и люцерны посевной достоверно снижали урожайность вегетативной массы: при одиночном внесении солей свинца и кадмия у люцерны, соответственно, на 28,2% и 34,8%, у донника – на 58,5% и 33,7%. Высота растений в данных вариантах изменялась в меньшей степени. Наибольшее снижение отмечено у люцерны в присутствии свинца – до 10% и кадмия – до 14%.

4. Наибольшую фиторемедиационную способность по отношению к цинку и свинцу проявил донник желтый, где достоверное накопление элемента в надземной части растения составило, соответственно, 122,5 мг/кг (или 2,45 МДУ) и 7,32 мг/кг (или 1,46 МДУ); по отношению к кадмию люцерна посевная – 0,71 мг/кг (или 2,37 МДУ). Накопление меди в вегетативной массе культур было незначительным, как у донника, так и у люцерны – до 4,32 мг/кг (или 0,21 МДУ).

5. В исследуемых образцах, загрязненных тяжелыми металлами в сочетании с минеральными сорбентами, коэффициент накопления вегетативной

массой растений элементов из почвы увеличивался в ряду: свинец (КН = 1,3) < медь (КН = 1,6) < кадмий (у донника КН = 1,8; у люцерны КН = 5,4) < цинк (у люцерны КН = 5,5; у донника КН = 7,2).

6. Внесение цеолита, глауконита, диатомита из расчета 2 т/га способствовало снижению содержания тяжелых металлов в растительной массе фитомелиорантов в сравнении с вариантом загрязнения без участия сорбентов: свинца (на 11-32% – у донника и 24-34% – у люцерны), кадмия (на 19-61% и 6-51%), и цинка (на 25-52% и 23-62%).

7. Применение диатомита (2 т/га) при возделывании бобовых трав на искусственно загрязненном черноземе в первый год исследования наиболее эффективно сказалось на снижении в почве подвижных форм свинца (до 64%), кадмия (до 88%) и цинка (до 45%) и меньшем накоплении металлов растениями, что может быть использовано на территориях с повышенным содержанием данных экотоксикантов.

8. Инокуляция семян бактериальным препаратом Ризоторфин (0,25 кг на гектарную норму высева семян) штамм донника 282, штамм люцерны 415 на черноземе выщелоченном повышала количество азотфикссирующих клубеньков на корнях фитомелиорантов первого года жизни (в первом укосе) более чем в два раза – у донника до 49%, у люцерны до 60%.

9. За период 2017-2018 гг. в пахотном слое чернозема выщелоченного достоверное снижение содержания подвижных форм свинца произошло под посевом донника в 2,9 раза, люцерны – в 1,1 раза; кадмия, соответственно, в 1,8 и 1,2 раза; цинка в 1,1 и 1,2 раза.

10. Способность фитомелиорантов накапливать в надземных органах токсичные ионы, сохраняя при этом продуктивность, свидетельствует о возможности использования в условиях южной лесостепной зоны *Melilotus officinalis* и *Medicago sativa* в комплексе с природными минеральными сорбентами с целью фиторемедиации загрязненных почв. Поступление свинца в биомассу указанных культур снижается более чем в 2 раза (до 0,49 МДУ – у донника, до 0,27 МДУ – у люцерны), кадмия – до 5 раз (0,47 МДУ – у донника и 0,3 МДУ у люцерны), цинка – до 2,3 раза (0,84-0,87 МДУ у обеих культур).

Практические рекомендации

Полученные на основе многолетних экспериментальных данных схемы возделывания бобовых трав, предварительно инокулированных бактериальным препаратом, совместно с природными кремниевыми сорбентами рекомендуем учитывать при проведении биологических этапов рекультивации выщелоченных черноземов в условиях южной лесостепной зоны:

– симбиотические штаммы бактерий *Rhizobium meliloti* (282 – для донника, 415 – для люцерны) рекомендуется использовать для повышения устойчивости и продуктивности фитомелиорантов

– для фитобиоремедиации в почве повышенного содержания свинца и цинка использовать донник желтый, ризоторфин (0,25 кг на гектарную норму высева семян) совместно с диатомитом (2 т/га)

– для фитобиоремедиации в почве повышенного содержания кадмия использовать люцерну посевную, ризоторфин (0,25 кг на гектарную норму высева семян) совместно с диатомитом (2 т/га), либо с глауконитом (2 т/га)

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Ознобихина А.О., Скипин Л.Н., Котченко С.Г., Гаевая Е.В., Захарова Е.В. Особенности накопления тяжелых металлов в почвах северной лесостепи районов Тюменской области // Вестн. КрасГАУ. – 2018. – № 5. – С. 252-257.

2. Ознобихина А.О. Границы всхожести семян фитомелиорантов в присутствии токсичных концентраций тяжелых металлов // Самарский научный вестник. – 2019. – Т8. – № 1 (26). – С. 82-86.

3. Ознобихина А.О., Першаков А.Ю., Ерёмин Д.И. Модельное биотестирование влияния солей тяжёлых металлов на жизнеспособность клубеньковых бактерий *Rhizobium meliloti* // Самарский научный вестник. – 2019. – Т. 8. – № 3 (28). – С. 69-72.

Публикации в международной индексируемой базе Scopus:

4. Oznobihina A.O. Heavy Metals in Soil&Plant System Under Conditions of the South of Tyumen Region / A.O. Oznobihina, E.V. Gayevaya // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (MSE). – 2017. – vol. 262. – pp. 1-7

5. Oznobihina A.O. The Ecological State of the Soil Continuum of Urbanized Territories / A.O. Oznobihina, E.V. Gayevaya // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – vol. 272. – pp. 1-6

6. Oznobihina A.O. The role of diatomite in the cultivation of legume grasses in modified black soil models // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (MSE). – 2020. – vol. 962 – pp. 1-5

Публикации в иных изданиях

7. Ознобихина А.О. Влияние кадмия на жизнеспособность семян донника желтого и люцерны посевной // Сборник материалов XV научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов, соискателей и магистрантов ТюмГАСУ. – 2015. – С. 92-96

8. Ознобихина А.О. Основные источники накопления тяжелых металлов в почвах юга Тюменской области // Сборник материалов XV научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов, соискателей и магистрантов ТюмГАСУ. – 2015. – С. 96-100

9. Ознобихина, А.О. Оценка токсичности меди при проращивании семян фитомелиорантов // Проблемы управления речными бассейнами при освоении Сибири и Арктики в контексте глобального изменения климата планеты в XXI веке: сборник докладов XIX Международной научно-практической конференции в 3 томах. – Тюмень: ТИУ, 2017. – С. 145-149

10. Ознобихина А.О., Ковкова А.С., Пасевич Е.И. Тяжелые металлы в почвах Нижнетавдинского района Тюменской области // Новые технологии нефтегазовому региону: материалы Международной научно-практической конференции. – Тюмень: ТИУ, 2017. – С. 260-262

11. Ознобихина, А.О. Эколого-токсикологическая оценка содержания свинца в компонентах природной среды юга Тюменской области // Новые технологии нефтегазовому региону: материалы Международной научно-практической конференции – Тюмень: ТИУ, 2017. – С. 262-265

12. Ознобихина А.О., Гаевая Е.В. Экологическая оценка растениеводческой продукции районов юга Тюменской области // Современные научно-практические решения в АПК: сборник статей Всероссийской научной конференции. Ч. 1. – Тюмень: ГАУСЗ, 2017. – С. 528-533