

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА ПРИ РОСТЕ В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ И НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

А.С. Григориади¹, В.В. Федяев¹, Ю.М. Сотникова¹, И.Р. Галин², С.П. Четвериков²,
М.И. Гарипова¹, А.А. Морозова¹, Р.Г. Фархутдинов¹

¹ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»

²Уфимский Институт биологии – обособленное структурное
подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр РАН»

Поступила в редакцию 10.06.2024 г.

Аннотация. При росте растений подсолнечника на нефтезагрязненной почве определяли всхожесть семян подсолнечника и его морфометрические показатели при применении биопрепаратов «Ленойл», «Азолен», «Агробиолог» и микробной культурой штамма *Enterobacter ludwigii* BLK. Установлено, что использование биопрепарата «Азолен» оказало наиболее благоприятное влияние на всхожесть и ростовые показатели проростков подсолнечника. Применение различных комбинаций микробиологических препаратов, включающих препарат-нефтедеструктор «Ленойл» и стимуляторы роста «Азолен», «Агробиолог» и новый штамм BLK, показало, что достоверное повышение активности фермента пероксидазы было в корнях в варианте «Ленойл + Агробиолог» и «Ленойл + Азолен». В надземной части стимулирующими активность фермента пероксидазы были комбинации препаратов «Ленойл + Агробиолог» и «Ленойл + Азолен + BLK». При использовании других комбинаций микробиологических препаратов активность фермента пероксидазы снижалась. Применение микробиологических препаратов приводило к активации фермента каталазы в корнях в комбинациях «Ленойл + BLK», «Ленойл + Азолен» и «Ленойл + Агробиолог», но активация фермента практически отсутствовала в комбинации «Ленойл + Азолен + BLK». В корнях не наблюдалось увеличения активности каталазы и, более того, происходило снижение его активности при применении препарата «Ленойл». Это может говорить об органоспецифичности работы фермента. Определение уровня активности ферментов антиоксидантной системы растений важно для подбора концентраций биопрепаратов и создания их комбинаций при проведении фиторемедиационных мероприятий на почвах, загрязненных нефтью. Проведение микроскопического исследования корней показало на отсутствие накопления суберина при обработке загрязненной нефтью почвой комбинацией микробных препаратов «Ленойл + Азолен», что указывает на их защитное действие. Таким образом, при применении биопрепаратов «Ленойл», «Азолен», «Агробиолог» и микробной культурой нового штамма *Enterobacter ludwigii* BLK в определенных комбинациях улучшаются ростовые показатели растений подсолнечника и всхожесть семян при нефтяном загрязнении почвы, изменяется активность ферментов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, микробные препараты, фиторемедиация, *Helianthus annuus*, антиоксидантная система, суберин.

Нефтяное загрязнение изменяет структуру и геохимические свойства почвы, снижает семенную продуктивность и скорость прорастания семян, тормозит рост и смещает фазы развития растений, изменяется численность и качественный состав почвенных микроорганизмов [1]. Более

высокая восприимчивость корневой системы растений к нефти по сравнению с наземной частью объясняется как непосредственным влиянием загрязнителей на корни, так и следствием изменения структуры почвы и ризосферных микроорганизмов, взаимодействующих с растениями [2].

Известно, что применение микробных препаратов на основе разных видов микроорганизмов, может повышать устойчивость растений, стимулировать рост в неблагоприятных условиях, за

© Григориади А.С., Федяев В.В., Сотникова Ю.М., Галин И.Р., Четвериков С.П., Гарипова М.И., Морозова А.А., Фархутдинов Р.Г., 2025

счет синтеза ими фитогормонов (ауксинов и цитокининов) [3, 4]. Следовательно, при оценке эффективности микробиологических препаратов, предназначенных для биodeградации нефтепродуктов, необходимо изучать комплекс анатомических и физиологических параметров растений-фиторе-медиантов, который будет свидетельствовать о наличии или отсутствии микробно-растительного взаимодействия [5]. Ранее нами была проведена оценка изменений морфометрических показателей, содержания фитогормонов и особенностей морфологии корней растений ржи посевной в условиях нефтяного загрязнения серой лесной почвы [6], которая указала на различный характер влияния микробных препаратов и их комбинаций на ростовые показатели и состояние антиоксидантной системы. Учет данных показателей необходим для формирования технологии применения биопрепаратов и растений-ремедиантов [7].

Выбор биопрепаратов предполагает подбор эффективного деструктора нефтепродуктов, не оказывающего ярко выраженного ингибирующего действия на растения ремедианты и подбор биопрепаратов стимуляторов их роста. Важным является также выбор способа обработки фиторе-медианта (внесение в почву, предпосевная обработка или внекорневая обработка растений) и для каждого вида и сорта растений возможны особенности применения биопрепаратов [6].

Известно, что неблагоприятные условия усиливают создание активных форм кислорода (АФК), таких как перекись водорода, супероксиданион и т.д.. АФК могут выступать в качестве вторичных мессенджеров, участвующих в пути передачи сигнала стресса, но их чрезмерная продукция может вызывать окислительный стресс, который повреждает растения, окисляя фотосинтетические пигменты, мембранные липиды, белки и нуклеиновые кислоты. Для контроля за уровнем АФК, у растения имеют неферментативные и ферментативные антиоксидантные системы для защиты клеток от окислительного повреждения [19, 20]. Кроме того, растения способны выполнять ферментативную деградацию органических поллютантов путем специфических для растительных клеток метаболических превращений и важную роль в этом играет - пероксидаза. Это может быть связано с тем, что пероксидазы в компонентах растительной клетки очень распространены, имеют низкую субстратную специфичность, сродство к ксенобиотикам разной химической структуры и т.д. [21].

Целью настоящей работы стало определение ответа антиоксидантной системы растений подсолнечника сорта Бомбардир на применение комбинаций биопрепаратов при их росте на нефтезагрязненной земле.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объектов исследования были выбраны сорта подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L., сорт Бомбардир). Растения выращивали с применением универсальной опоры, которая позволяла поддерживать растения в вертикальном состоянии [8].

Лабораторные модельные опыты проводили на черноземах, собранных в Кугарчинском районе Республики Башкортостан. Пробы почв отбирали согласно требованиям ГОСТ 17.4.4.02.-2017. Определяли следующие показатели: рН солевой вытяжки – потенциометрическим методом (ГОСТ 26483-85); гумус по методу Тюрина (ГОСТ 26213-91).

Почву увлажняли до 60% полной влагоемкости почвы, вносили товарную нефть в концентрации 4% от сухой массы почвы [9], тщательно перемешивали и поддерживали влажность на протяжении всего периода выращивания. Через 72 часа в почву вносили биопрепарат «Ленойл», для биodeградации нефти в почве, в виде суспензии с титром $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл из расчета 0,3 мл на 100 г сухой почвы. Спустя 30 суток в часть сосудов добавляли препараты («Азолен» или «Агробактериолог» или микробную культуру штамма *Enterobacter ludwigii* BLK) в виде суспензии с титром $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл из расчета 0,3 мл на 100 г сухой почвы. В почву вносили семена подсолнечника в соответствии с рекомендациями [10], а также с учетом требований ГОСТ Р ИСО 18769-2019 и ГОСТ Р ИСО 22030-2009. В контрольном варианте эксперимента растения выращивали без внесения нефти. Сравнительную оценку влияния устойчивости проводили через 30 суток. Растения в течение 30 дней выращивали в сосудах объемом 0,5 л, при 12-часовом светопериоде, интенсивности освещения 30 клк и температуре воздуха 22-25°C.

В состав биопрепарата «Ленойл»® – NORD, СХП (производитель ЗАО НПП «Биомедхим» ТУ 9291-007-33822935-2014) входят нефтеокисляющие бактерии *Pseudomonas turukhanskensis* ИБ 1.1 [11]. Препарат «Азолен» - микробиологическое удобрение на основе *Azotobacter vinelandii* ИБ с фунгицидными, ростостимулирующими свойствами и азотфиксирующей способностью [12]. Нейтрализатор пестицидного стресса «Агробактериолог» (разработка

Григориади А.С., Федяев В.В., Сотникова Ю.М., Галин И.Р., Четвериков С.П., Гарипова М.И., Морозова А.А., Фархутдинов Р.Г.

Уфимского ИБ УФИЦ РАН) представляет собой живые бактерии *Pseudomonas protegens* DA1.2 ($45 \cdot 10^9$ КОЕ/мл), характеризуется устойчивостью к гербицидам, засухе, способностью к фиксации атмосферного азота, минерализации фосфора [13]. Препарат под условным названием «BLK» (разработка Уфимского ИБ УФИЦ РАН), представляет собой штамм *Enterobacter ludwigii* BLK - стимулятор роста кормовых трав, который, по данным разработчиков, положительно влияет на всхожесть, массу побегов и корней у кормовых трав, имеет определенную нитрогеназную и фосфатмобилизующую активность [14].

Для изучения изменений в морфологии тканей корней растений готовили поперечные срезы, взятые в базальной части и на расстоянии 2 см от апекса корня. Выявление лигнина и суберина проводили, как описано в работе [15]: срезы окрашивали с использованием водного раствора берберина гемисульфата (0,1% вес/объем) в течение 1 часа, промывали 2 раза дистиллированной водой, затем для усиления интенсивности флуоресценции срезы докрашивали в течение 15 мин толуидиновым синим (0,05% вес/объем) в 0,1М фосфатном буфере (рН 5,6), промывали 2 раза дистиллированной водой, заключали в смесь 0,1% FeCl_3 / 50% глицерина и накрывали покровным стеклом. Для изучения срезов применяли лазерный сканирующий конфокальный микроскоп Olympus FluoView FV3000 (Olympus, Япония) РЦКП «Агидель» (УФИЦ РАН). Для оценки изменений в структуре корневой системы, корни отмывали водой от земли, помещали в питательный раствор и анализировали с помощью светового микроскопа Axio Imager.A1 (“CarlZeiss Jena”, Германия), оборудованного цифровой камерой AxioCam MRc5 (“CarlZeiss Jena”) при увеличении X100 [16]. В программе AxioVision V4.9.1 (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Deutschland) с помощью инструмента Outline мы измерили периметры клеток коры корня в базальной части корня и в 2х см от апекса корня, в пикселях. Для статистического анализа мы взяли поперечные срезы корней трех разных растений на каждом варианте и измерили клетки коры корня.

Определение всхожести семян после предпосевной обработки биопрепаратами проводили с использованием фильтровальной бумаги по ГОСТ 12038-84.

Для определения активности ферментов (каталаза, пероксидаза) применяли методики описанные у Королук и др. [17] и Ермакова [18].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0, рассчитыва-

ли средние значения, стандартные отклонения и доверительный интервал при $p \leq 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В месте отбора проб почвы, мощность гумусового горизонта составляла 55-60 см и имела содержание гумуса 8-9 % тёмно-серой окраски, структура пылевато-зернистая или комковато-крупнозернистая, присутствуют карбонаты, механический состав тяжелосуглинистый и глинистый, реакция слабо-кислая (рН 6,2-6,5).

Важно при оценке влияния микробных препаратов на растение изучить действие предпосевной обработки на всхожесть семян всеми биопрепаратами, которые планировались к использованию. Как правило, предпосевные обработки повышают энергию прорастания семян.

Как видно из рисунка 1, почти 100% всхожесть семян отмечалась в контрольном варианте и при обработке семян биопрепаратом «Азолен» (96%). При обработке биопрепаратом «Ленойл» всхожесть семян составила 62% от контроля, «BLK» - 54%, «Агробиолог» - 87%. Предпосевная обработка семян препаратом «Азолен» способствовала не только хорошей всхожести семян, но и увеличению длины надземной части 3-х сутокных проростков по сравнению с контрольным (необработанным биопрепаратом) на 18,4 % (рис. 2). При обработке биопрепаратом «Ленойл» длина проростков была меньше на 17,8% относительно контрольного варианта. При обработке семян биопрепаратом «BLK» и «Агробиолог» также длина надземной части была меньше относительно значений контроля на 24 и 9% соответственно.

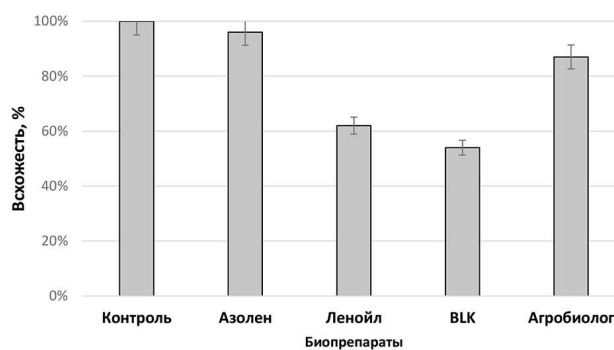


Рис.1. Всхожесть семян подсолнечника сорта «Бомбардир» под влиянием биопрепаратов «Азолен», «Ленойл», «BLK» и «Агробиолог».

Таким образом, в результате проведенных экспериментов было установлено, что использование биопрепарата «Азолен» наиболее благоприятно

влияло на всхожесть и ростовые показатели проростков подсолнечника.

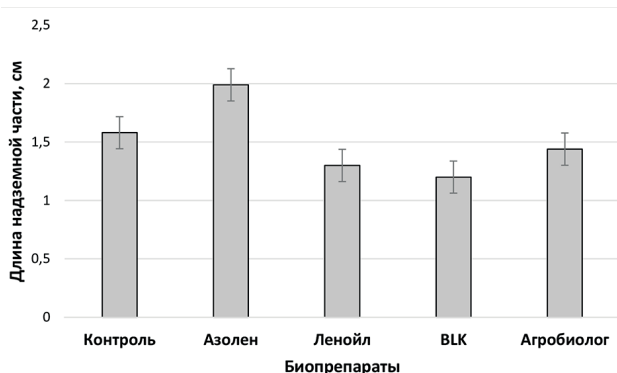


Рис. 2. Влияние биопрепаратов «Азолен», «Ленойл», «BLK» и «Агробактериолог» на длину надземной части 3-х сутокных проростков сорта «Бомбардир».

Изучение изменений в активности ферментов антиоксидантной системы у растений подсолнечника сорта Бомбардир при росте на нефтезагрязненной почве и применении комбинаций препаратов показало отзывчивость антиоксидантной системы (табл. 1). Как известно из литературы при адаптации в условиях нефтяного загрязнения растения накапливают низкомолекулярные антиоксиданты, например, полифенолы, и происходит активация антиоксидантных ферментов каталазы и пероксидазы [23, 24]. Следовательно, ферменты антиоксидантной системы растения условиях загрязнения почвы могут принимать участие в защите растений от окислительного стресса и участвовать в деградации органических поллютантов, попадающих внутрь растения, биопрепараты изменяют их активность [25].

Таблица 1.

Изменение активности пероксидазы в побегах и корнях растений подсолнечника (сорт Бомбардир), выращенных в почве с содержанием 4% нефти и внесении биопрепаратов «Азолен», «Ленойл», «Агробактериолог», «BLK»

Вариант опыта	Корень (ОЕ*)	Побег (ОЕ*)
Контроль (почва без нефти)	42,6±4,48	37,76±3,44
Загрязнение (почва с нефтью)	18,11±1,22	22,81±2,48
Контроль+Ленойл+Азолен+ BLK	31,22±3,91	53,89±5,45
Контроль+Ленойл+Азолен	49,50±4,1	40,2±4,98
Контроль+Ленойл+ BLK	36,99±1,38	38,74±3,02
Контроль+Ленойл	34,22±3,74	24,58±2,54
Контроль+Ленойл+Агробактериолог	52,51±2,91	48,58±4,09
Загрязнение+Ленойл+ BLK	30,50±3,09	49,36±4,5
Загрязнение+Ленойл+Азолен+BLK	21,81±3,85	40,71±4,87
Загрязнение+Ленойл	14,90±1,29	43,66±2,31
Загрязнение+Ленойл+Азолен	45,43±4,18	52,90±4,59
Загрязнение+Ленойл+Агробактериолог	55,85±5,04	46,38±4,79

* ОЕ – относительные единицы

Как видно из таблицы 1 применение на контрольных вариантах различных комбинаций микробиологических препаратов из препарата нефтедеструктора «Ленойл» и стимуляторов роста «Азолен», «Агробактериолог» и биопрепарата «BLK», показало, что достоверное повышение активности фермента пероксидазы было в варианте «Ленойл+Агробактериолог» и «Ленойл+Азолен» в корнях, по сравнению с «чистым» контролем. В надземной части стимулирующими активность фермента были комбинации «Ленойл+Агробактериолог» и «Ленойл+Азолен+BLK». Другие комбинации препаратов снижали активность фермента пероксидазы, относительно контроля. Эти данные позволяют сделать предположение, что микробиологические препараты оказывают разнонаправленное влияние на активность фермента.

Загрязнение нефтепродуктами черноземной почвы в опытах с подсолнечником приводило к снижению активности пероксидаз в корнях и надземной части подсолнечника. Эта реакция была схожа на установленную нами ранее у ржи и люцерны на серой лесной почве [6]. Применение биопрепаратов на нефтезагрязненных почвах в комбинациях «Ленойл+ BLK», «Ленойл+Азолен» и «Ленойл+Агробактериолог» приводило к активации фермента каталазы в корнях, а надземной части во всех комбинациях биопрепаратов. Это также говорит в пользу того, что микробиологические препараты по-разному влияют на активацию фермента АФК системы – каталазу. Наибольшая активация фермента в корнях наблюдалась при применении комбинации «Ленойл+Агробактериолог».

Определение активности каталазы показало (табл. 2), что применение на контрольных растениях (выросших на почве без внесения нефти, но с применением определенных биопрепаратов) приводило увеличению активности фермента в 2 – 7 раз. Однако, в корнях не происходило изменения активности каталазы и более того происходило снижение его активности при применении препарата «Ленойл».

Также, как и при определении активности пероксидаз (табл. 1), нами было установлено снижение активности фермента каталазы, при росте нефтезагрязненной почве происходило снижение внутриклеточной активности фермента каталазы в корнях и отсутствие реакции в надземной части (табл. 2). Это говорит об органоспецифичности работы фермента. Применение микробиологических препаратов приводило к активации фермента каталазы в корнях при комбинациях «Ленойл+ BLK», «Ленойл», «Ленойл+Азолен» и «Ленойл+Агробактериолог», но активация практически отсутствовала в комбина-

ции «Ленойл+Азолен+ BLK». Величина активации составила от 203 до 268%. В побегах величина былакратно выше от 8,7 до 9,7 раза, за исключением варианта «+Ленойл», где активация составила 35%.

Наибольшая активация фермента каталаза в корнях и надземной части также, как и при определении активности фермента пероксидаза, наблюдалась при применении комбинации препаратов «Ленойл+Агробииолог» (табл. 2). Это говорит, о том, что при таком сочетании препаратов у растения формируется наиболее высокая активность ферментов принимающих участие в защите растений от окислительного стресса и возможно в деградации органических поллютантов, попадающих внутрь растения.

Для более полной оценки влияния загрязнения и биопрепаратов изучалось строение корней подсолнечника в условиях нефтяного стресса и рекультивации. Нами были проведено определение мест локализации лигнина на поперечных срезах базальной части корней подсолнечника выявило усиление отложения лигнина под влиянием нефти (рис. 3), что может свидетельствовать

о формировании апопластных барьеров в корнях растений для защиты от проникновения токсичных веществ, содержащихся в нефти.

Таблица 2.

Изменение активности каталазы в побегах и корнях растений подсолнечника (сорт Бомбардир), выращенных в почве с содержанием 4% нефти и внесении биопрепаратов «Азолен», «Ленойл», «Агробииолог», «BLK»

Вариант опыта	Корень, мкат/мг	Побег, мкат/мг
Контроль (почва без нефти)	2,037±0,188	0,755±0,070
Загрязнение (почва с нефтью)	0,725±0,073	0,721±0,089
Контроль+Ленойл+Азолен+ BLK	2,170±0,208	5,914±0,548
Контроль+Ленойл+Азолен	1,982±0,203	5,742±0,516
Контроль+Ленойл+ BLK	1,980±0,186	5,233±0,520
Контроль+Ленойл	0,822±0,097	1,449±0,146
Контроль+Ленойл+Агробииолог	2,069±0,201	2,617±0,241
Загрязнение+Ленойл+ BLK	1,476±0,131	6,550±0,620
Загрязнение+Ленойл+Азолен+ BLK	0,964±0,061	6,939±0,285
Загрязнение+Ленойл	1,609±0,158	0,977±0,099
Загрязнение+Ленойл+Азолен	1,485±0,142	6,263±0,279
Загрязнение+Ленойл+Агробииолог	1,945±0,170	7,006±0,250

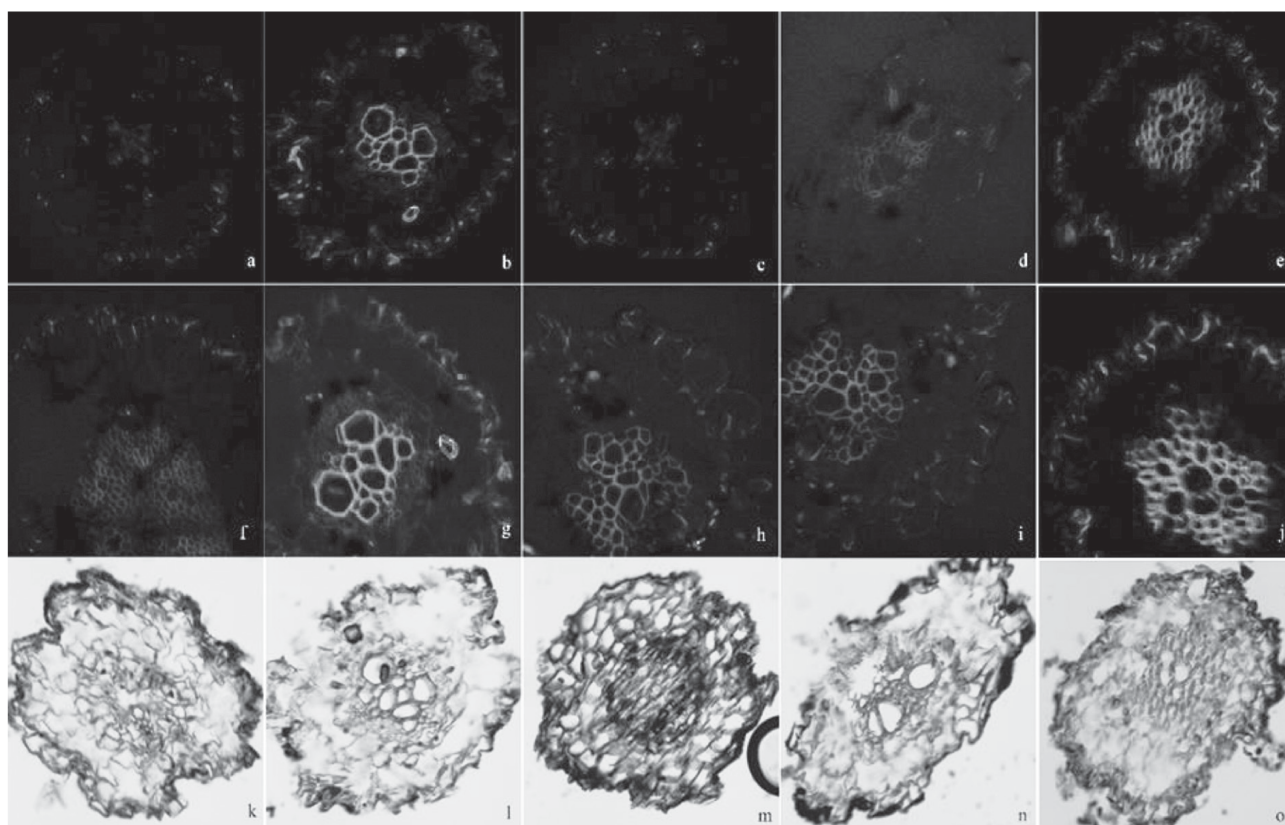


Рис. 3. Локализация лигнина в окрашенных берберином поперечных срезах корней подсолнечника выращенных: а, f, k – в почве, содержащей 4% нефти, после применения биопрепаратов «Ленойл+Азолен»; b, g, l - в почве, содержащей 4 % нефти, c, h, m –в почве без нефти; d, i, n - в почве без нефти, после применения биопрепаратов «Ленойл+Азолен»; e, j, o - в почве, содержащей 4 % нефти, после применения биопрепаратов «Ленойл+BLK». Изображения получены в 2-х см от апекса корня (а, d, c, d, e) и в базальной части корня (f, g, h, i, j).

Применение комбинации микробных препаратов «Ленойл+Азолен» при нефтяном загрязнении почвы, возможно снижало содержание токсических веществ, что приводило к уменьшению накопления лигнина (рис. 3). Известно, что отложение лигнина в области радиальных стенок эндодермы поясков Каспари приводит к усилению апопластных барьеров, однако это снижает гидравлическую проводимость корней, что может тормозить рост надземной части растений [22]. В связи с этим, наблюдаемое нами отсутствие накопления суберина при обработке загрязненной нефтью почвой комбинацией микробных препаратов «Ленойл+Азолен», показывает на их защитное действие. Причем испытываемый нами препарат под названием «BLK» в комбинации с препаратом деструктором «Ленойлом» не оказывал защитного действия, и мы наблюдали накопление суберина, так же как в варианте, когда растения подсолнечника росли на нефтезагрязненной почве без использования микробиологических препаратов (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях нефтяного загрязнения и обработки почвы биопрепаратами деструктором нефти «Ленойл» и стимуляторами роста, нам удалось установить роль антиоксидантной системы растений в адаптации к разрабатываемой технологии применения подсолнечника в качестве фиторемедианта. Определение уровня активности ферментов антиоксидантной системы растений важно для подбора концентраций биопрепаратов и создания их комбинаций при проведении фиторемедиационных мероприятий на почвах, загрязненных нефтью. Применение углеводородокисляющих микроорганизмов р. *Pseudomonas*, способных синтезировать гормоны растений, является большим преимуществом для формирования устойчивости фиторемедиантов к их росту в условиях нефтяного загрязнения почвы [2, 4, 7].

Проведенные исследования показали, также, что при применении биопрепаратов «Ленойл», «Азолен», «Агробактериолог» и «BLK» в определенных комбинациях улучшаются ростовые показатели растений подсолнечника и всхожесть семян, изменяется активность ферментов антиоксидантной системы. Так достоверное повышение активности фермента пероксидазы было в варианте «Ленойл+Агробактериолог» и «Ленойл+Азолен» в корнях, а в надземной части активность фермента была выше в комбинации «Ленойл+Агробактериолог» и «Ленойл+Азолен+BLK». Другие комбина-

ции препаратов снижали активность фермента пероксидазы. Активации фермента каталазы в корнях наблюдалась при комбинациях «Ленойл+BLK», «Ленойл», «Ленойл+Азолен» и «Ленойл+Агробактериолог». Проведение микроскопического исследования корней показало на отсутствие накопления суберина при обработке загрязненной нефтью почвой комбинацией микробных препаратов «Ленойл+Азолен», что показывает на их защитное действие.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-24-00358, <https://rscf.ru/project/23-24-00358/>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Высоцкая Л.Б., Архипова Т.Н., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Ахтямова З.А., Иванов Р.С., Тимергалина Л.Н., Кудоярова Г.Р. Сравнение реакции растений различных видов на нефтяное загрязнение // Биомика. – 2019. – № 1. – С. 86–100. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-06
2. Коршунова Т.Ю., Четвериков С.П., Бакаева М.Д., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Четверикова Д.В., Логинов О.Н. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т.55. – №4. – С. 338-349. DOI:10.1134/S0555109919040093
3. Архипова Т.Н., Веселов С.Ю., Мелентьев А.И., Мартыненко Е.В., Кудоярова Г.Р. Влияние микроорганизмов, продуцирующих цитокинины, на рост растений // Биотехнология. – 2006. – № 4. – С. 50-55.
4. Бакаева М.Д., Коршунова Т.Ю., Столярова Е.А. Влияние микроорганизмов с разным набором свойств на содержание нефтепродуктов в почве и морфометрические показатели растений // Известия Уфимского Научного Центра РАН. – 2021. – № 2. – С. 74–78. DOI: 10.31040/2222-8349-2021-0-2-74-78
5. Пинчук И.П., Полянская Л.М., Кириллова Н.П., Степанов А.Л. Особенности формирования микробного сообщества дерново-подзолистой почвы в процессе вегетации ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Почвоведение. – 2018. – № 12. – С. 1498-1505. DOI: 10.1134/S0032180X18120092
6. Сотникова Ю.М., Федяев В.В., Григориади А.С., Гарипова М.И., Махмутов А.Р., Галин И.Р., Новоселова Е.И., Ямалеева А.А., Фархутдинов Р.Г. Оценка фиторемедиационного потенциала сельскохозяйственных растений при нефтяном загрязнении почвы // Известия высших учебных

Григориади А.С., Федяев В.В., Сотникова Ю.М., Галин И.Р., Четвериков С.П., Гарипова М.И., Морозова А.А., Фархутдинов Р.Г.

заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2021. – №3. – С. 99-109. DOI: 10.21685/2307-9150-2021-3-9

7. Сотникова Ю.М. Технология фиторемедиации нефтезагрязненных серых лесных почв: монография / Ю.М. Сотникова, А.С. Григориади, Р.Г. Фархутдинов – Уфа: РИЦ БашГУ, 2022. – 160 с.

8. Патент РФ № 198397 Российская Федерация, МПК А01G 9/12(2006.01) Универсальная опора для растений: № 2019145756: заявл. 31.12.2019; опубл. 03.07.2020/ Федяев В.В., Кулуев Б.Р., Сотникова Ю.М., Фархутдинов Р.Г., Хаматдинова Г.И., Гарипова М.И., Веселов С.Ю.; заявитель ФГБОУ ВПО "Башкирский государственный университет" – 5 с.

9. Григориади А.С., Зобкова Н.В., Сотникова Ю.М., Ямалеева А.А., Фархутдинов Р.Г. Реакция микробного сообщества ризосферы растений-фиторемедиантов на нефтяное загрязнение и применение биопрепаратов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – . №. – № 13(4). – С. 523-531.

10. Сотникова Ю.М., Григориади А.С., Хисамов Р.Р., Фархутдинов Р.Г. Влияние предпосевной обработки семян люцерны посевной препаратом Елена на повышение ее устойчивости к загрязнению почвы нефтепродуктами // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 5(85). – С. 79-83.

11. Коршунова Т.Ю., Логинов О.Н. Токсикологическая оценка биопрепарата-нефтедеструктора «Ленойл»-NODR, СХП // Токсикологический вестник. – 2017. – № 3 – С. 58-60. DOI: 10.36946/0869-7922-2017-3-58-60

12. Логинов О.Н. Биорекультивация: микробиологические технологии очистки нефтезагрязненных почв и техногенных отходов / О.Н. Логинов, Н.Н. Силищев, Т.Ф. Бойко, Н.Ф. Галимзянова – М.: Наука, 2009. – 112 с

13. Четвериков С.П., Четверикова Д.В., Бакаева М.Д., Кенджиева А.А., Стариков С.Н., Султангазин З.Р. Перспективный штамм бактерий *Pseudomonas protegens* для стимуляции роста сельскохозяйственных злаков, устойчивый к гербицидам // Прикладная биохимия и микробиология. – 2021. – Т. 57. – № 1. – С. 87-94.

14. Патент № 2796926 С1 Российская Федерация, МПК C12N 1/20, C12R 1/01. Штамм бактерий *Enterobacter ludwigii* для повышения урожайности кормовых трав: № 2022130757: заявл. 25.11.2022: опубл. 29.05.2023 / С. П. Четвериков, Д. В. Четверикова, М. Д. Бакаева [и др.]; заявитель ФГБНУ УФИЦ РАН. – 5 с.

15. Bezrukova M. Effect of WGA on 24-Epibrassinolide-Induced Resistance of Wheat Plants and Cell Walls Reinforcement under the Influence of Cadmium Acetate / M. Bezrukova, A. Lubyanova, F. Shakirova // Biol. Life Sci. Forum. – 2021. – Vol. 4. – № 1. – P. 80.

16. Третьякова М.С., Беловежец Л.А., Маркова Ю.А., Макарова Л.Е. Исследование способности бактерий-нефтедеструкторов снижать токсическое действие нефти на растения // Агрохимия. – 2017. – № 12. – С. 46-51. DOI: 10.7868/S0002188117120079

17. Королюк М. А. Иванова Л. К., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – №. 4. – С. 44-47.

18. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений/ А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош Л. и др. – Л: Агропромиздат, 1987. – С. 41-43.

19. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О. Ферментативные источники активных форм кислорода в растительных клетках: регуляция активности и участие в стрессовых реакциях // Вісник Харківського Національного Аграрного Університету. Серія Біологія. – 2012. – № 1. – С. 6–22.

20. Mattos L.M. Oxidative stress in plants under drought conditions and the role of different enzymes / L.M. Mattos, C.L. Moretti // Enz Eng. – 2015. – Vol. 5(1). – № 1. – P. 136.

21. Kvesitadze E. Mechanisms of organic contaminants uptake and degradation in plants / E. Kvesitadze, T. Sadunishvili, G. Kvesitadze // World Academy of science, Engineering and Technology. – 2009. – Vol. 55. – P.458-468.

22. Martynenko E. Effects of phytohormone-producing rhizobacteria on casparian band formation, ion homeostasis and salt tolerance of durum wheat / E. Martynenko, T. Arkhipova, V. Safronova, O. Seldimirova, I. Galin, Z. Akhtyamova, D. Veselov, R. Ivanov, G. Kudoyarova // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12. – № 2. – P. 230. DOI: 10.3390/biom12020230

23. Terek O. Crude oil contamination and plants / O. Terek, O. Laphyna, O. Velychko, L. Bunyo, M. Dovgaiuk-Semeniuk // Journal of Central European Green Innovation. - 2015. - Vol. 3. - № 2. - P. 175-184.

24. Muratova A. Physiological and biochemical characteristic of *Miscanthus giganteus* grown in heavy metal–oil sludge co-contaminated soil / A. Muratova, Y. Lyubun, I. Sungurtseva, O. Turkovskaya, A. Nurzhanova // Journal of Environmental Sciences. – 2022. - Vol. 115. - P. 114-125. DOI: 10.1016/j.jes.2021.07.013

25. Rusin M. Soil pollution by petroleum-derived substances and its bioremediation: The effect on *Aphis fabae* Scop. infestation and antioxidant response in

Vicia faba L. / J. Gospodarek, A. Nadgorska-Socha // Agronomy. – 2020. - № 10(1). – P. 147.

Уфимский университет науки и технологий
Григориади Анна Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии

E-mail: nysha111@yandex.ru

Ufa University of Science and Technology
Grigoriadi Anna S., PhD., Associate Professor of the Department of Biochemistry and Biotechnology
E-mail: nysha111@yandex.ru

Федяев Вадим Валентинович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии

E-mail: vadim.fedyaev@gmail.com

Fedyaev Vadim V., PhD, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Biotechnology
E-mail: vadim.fedyaev@gmail.com

*Сотникова Юлия Михайловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии

E-mail: sotnikova-bashedu@mail.ru

*Sotnikova Yulia M., PhD., Associate Professor, Department of Biochemistry and Biotechnology
E-mail: sotnikova-bashedu@mail.ru

Гарипова Маргарита Ивановна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии

E-mail: margaritag@list.ru

Garipova Margarita I., PhD., DSci., Professor of the Department of Biochemistry and Biotechnology
E-mail: margaritag@list.ru

Морозова Александра Александровна, студент кафедры биохимии и биотехнологии

E-mail: sasha-sashulya.morozova@yandex.ru

Morozova Alexandra A., student of the Department of Biochemistry and Biotechnology

E-mail: sasha-sashulya.morozova@yandex.ru

Фархутдинов Рашит Габдулхаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии и биотехнологии

E-mail: frg2@mail.ru

Farkhutdinov Rashit G., PhD., DSci., Head of the Department of Biochemistry and Biotechnology

E-mail: frg2@mail.ru

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Галин Ильшат Рафкатович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии растений, Уфа

E-mail: ilshat.rafkatovitch@gmail.com

Ufa Institute of Biology - a separate structural unit of the Federal State Budgetary Scientific Institution of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences

Galin Ilshat R., PhD., Researcher, Laboratory of Plant Physiology

E-mail: ilshat.rafkatovitch@gmail.com

Четвериков Сергей Павлович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией агробиологии

E-mail: che-kov@mail.ru

Chetverikov Sergey P., PhD., DSci., Head of the laboratory of agrobiology

E-mail: che-kov@mail.ru

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF SUNFLOWER PLANTS GROWING IN CONDITIONS OF OIL POLLUTION OF THE SOIL WITH THE USE OF MICROBIOLOGICAL PRODUCT

A.S. Grigoriadi¹, V.V. Fedyaev¹, Yu.M. Sotnikova¹, I.R. Galin², S.P. Chetverikov², M.I. Garipova¹, R.G. Farkhutdinov¹

¹Ufa University of Science and Technology

²Ufa Institute of Biology, UFIC RAS

Abstract. During the growth of sunflower plants on oil-contaminated soil, the germination of sunflower seeds and its morphometric parameters were determined using biological products "Lenoil", "Azolen", "Agrobiologist" and a microbial culture of the strain *Enterobacter ludwigii* BLK. It was found that the use of the biological product "Azolen" had the most favorable effect on the germination and growth performance of sunflower seedlings. The use of various combinations of microbiological preparations, including the oil destructor drug "Lenoil" and growth stimulants "Azolen", "Agrobiologist" and the new strain BLK, showed that a significant increase in the activity of the peroxidase enzyme was in the roots in the variants "Lenoil + Agrobiologist" and "Lenoil + Azolen." In the aerial part, the combinations of drugs "Lenoil + Agrobiologist" and "Lenoil + Azolen + BLK" stimulated the activity of the peroxidase enzyme. When using other combinations of microbiological preparations, the activity of the peroxidase enzyme decreased. The use of microbiological preparations led to the activation of the catalase enzyme in the roots in the combinations "Lenoil + BLK", "Lenoil + Azolen" and "Lenoil + Agrobiologist", but the activation of the enzyme was practically absent in the combination "Lenoil + Azolen + BLK". There was no change in catalase activity in the roots and, moreover, there was a decrease in its activity when using the drug "Lenoil". This may indicate organ specificity of the enzyme. Determining the level of activity of enzymes of the antioxidant system of plants is important for selecting the concentrations of biological products and creating their combinations when carrying out phytoremediation measures on soils contaminated with oil. A microscopic examination of the roots showed that there was no accumulation of suberin when oil-contaminated soil was treated with the combination of microbial preparations "Lenoil + Azolen", which indicates their protective effect. Thus, when using biological products "Lenoil", "Azolen", "Agrobiologist" and a microbial culture of a new strain of *Enterobacter ludwigii* BLK in certain combinations, the growth performance of sunflower plants and seed germination in case of oil contamination of the soil are improved, and the activity of enzymes of the antioxidant system changes.

Keywords: oil pollution, microbial preparations, phytoremediation, *Helianthus annuus*, antioxidant system, suberin.

REFERENCES

1. Vysotskaya L.B., Arkhipova T.N., Kuzina E.V., Rafikova G.F., Akhtyamova Z.A., Ivanov R.S., Timergalina L.N., Kudoyarova G.R. Comparison of the reaction of different plant species to oil pollution // *Biomika*. – 2019. – № 1. – С. 86–100.
2. Korshunova T.Yu., Chetverikov S.P., Bakaeva M.D., Kuzina E.V., Rafikova G.F., Chetverikova D.V., Loginov O.N. Microorganisms in the elimination of the consequences of oil pollution (review) // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2019. – Т.55. – №4. – С. 338-349.
3. Arkhipova T.N., Veselov S.Yu., Melentyev A.I., Martynenko E.V., Kudoyarova G.R. The influence of microorganisms producing cytokinins on plant growth // *Biotechnology*. – 2006. – № 4. – С. 50-55.
4. Bakaeva M.D., Korshunova T.Yu., Stolyarova E.A. The influence of microorganisms with different sets of properties on the content of oil products in the soil and morphometric parameters of plants // *Bulletin of the Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. – 2021. – № 2. – P. 74–78.
5. Pinchuk I.P., Polyanskaya L.M., Kirillova N.P., Stepanov A.L. Features of the formation of the microbial community of sod-podzolic soil during the vegetation of barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Soil Science*. – 2018. – № 12. – P. 1498-1505.
6. Sotnikova Yu.M., Fedyaev V.V., Grigoriadi A.S., Garipova M.I., Makhmutov A.R., Galin I.R., Novoselova E.I., Yamaleeva A.A., Farkhutdinov R.G. Assessment of phytoremediation potential of agricultural plants in case of oil pollution of soil // *News of higher educational institutions. Volga region. Natural sciences*. – 2021. – №3. – P. 99-109.
7. Sotnikova Yu.M. Technology of phytoremediation of oil-contaminated gray forest soils:

monograph / Yu.M. Sotnikova, A.S. Grigoriadi, R.G. Farkhutdinov – Ufa: RITS BashGU, 2022. – 160 p.

8. Patent RF № 198397 Rossiyskaya Federatsiya, MPK A01G 9/12(2006.01) Universal'naya opora dlya rasteniy: № 2019145756: zayavl. 31.12.2019: opubl. 03.07.2020/ Fedayev V.V., Kuluyev B.R., Sotnikova YU.M., Farkhutdinov R.G., Khamatdinova G.I., Garipova M.I., Veselov S.YU.; zayavitel' Bashkirskiy gosudarstvennyy universitet" – 5 p.

9. Grigoriadi A.S., Zobkova N.V., Sotnikova Yu.M., Yamaleeva A.A., Farkhutdinov R.G. Response of the rhizosphere microbial community of phytoremediation plants to oil pollution and the application of biopreparations // News of universities. Applied chemistry and biotechnology. – . №. – № 13(4). – P. 523-531.

10. Sotnikova Yu.M., Grigoriadi A.S., Khisamov R.R., Farkhutdinov R.G. Effect of pre-sowing treatment of alfalfa seeds with the preparation Elena and increasing its resistance to soil pollution with oil products // Bulletin of the Orenburg State Agrarian University. –2020. – № 5(85). – P. 79-83.

11. Korshunova T.Yu., Loginov O.N. Toxicological assessment of the biopreparation-oil de-detector "Lenoil"-NODR, SXP // Toxicological Bulletin. – 2017. – № 3 – P. 58-60.

12. Loginov O.N. Biorekul'tivatsiya: mikrobiologicheskiye tekhnologii ochistki neftezagryaznennykh pochv i tekhnogennykh otkhodov / O.N. Loginov, N.N. Silishchev, T.F. Boyko, N.F. Galimzyanova – M.: Nauka, 2009. – 112 p.

13. Chetverikov S.P., Chetverikova D.V., Bakaeva M.D., Kendzhieva A.A., Starikov S.N., Sultangazin Z.R. Promising strain of Pseudomonas protegens bacteria for stimulating the growth of agricultural cereals, resistant to herbicides // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2021. – Vol. 57. – № 1. – P. 87-94.

14. Patent № 2796926 C1 Rossiyskaya Federatsiya, MPK C12N 1/20, C12R 1/01. Shtamm bakteriy Enterobacter ludwigii dlya povysheniya urozhaynosti kormovykh trav: № 2022130757: zayavl. 25.11.2022: opubl. 29.05.2023 / S. P. Chetverikov, D. V. Chetverikova, M. D. Bakayeva [i dr.]; zayavitel' FGBNU UFITS RAN. – 5 c.

15. Bezrukova M. Effect of WGA on 24-Epibrassinolide-Induced Resistance of Wheat Plants and Cell Walls Reinforcement under the Influence of Cadmium Acetate / M. Bezrukova, A.

Lubyanova, F. Shakirova // Biol. Life Sci. Forum. – 2021. –Vol. 4. –№ 1. – P. 80.

16. Tretyakova M.S., Belovezhets L.A., Markova Yu.A., Makarova L.E. Study of the ability of oil-degrading bacteria to reduce the toxic effect of oil on plants // Agrochemistry. – 2017. – № 12. – P. 46-51.

17. Korolyuk M.A. Ivanova L.K., Mayorova I.G. Method for determining catalase activity // Laboratory work. – 1988. – №. 4. – P. 44-47.

18. Yermakov A. I. Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy/ A. I. Yermakov, V. V. Arasimovich, N. P. Yarosh L. i dr. – L: Agropromizdat, 1987. – P. 41-43.

19. Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O. Enzymatic sources of active forms of oxygen in plant cells: regulation of activity and participation in stress reactions // News of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology. – 2012. – № 1. – P. 6-22.

20. Mattos L.M. Oxidative stress in plants under drought conditions and the role of different enzymes / L.M. Mattos, C.L. Moretti // Enz Eng. – 2015. – Vol. 5(1). –№ 1. – P. 136.

21. Kvesitadze E. Mechanisms of organic contaminants uptake and degradation in plants / E. Kvesitadze, T. Sadunishvili, G. Kvesitadze // World Academy of science, Engineering and Technology. – 2009. – Vol. 55. – P.458-468.

22. Martynenko E. Effects of phytohormone-producing rhizobacteria on casparian band formation, ion homeostasis and salt tolerance of durum wheat / E. Martynenko, T. Arkhipova, V. Safronova, O. Seldimirova, I. Galin, Z. Akhtyamova, D. Veselov, R. Ivanov, G. Kudoyarova // Biomolecules. – 2022. –Vol. 12. – № 2. – P. 230.

23. Terek O. Crude oil contamination and plants / O. Terek, O. Laphyna, O. Velychko, L. Bunyo, M. Dovgaiuk-Semeniuk // Journal of Central European Green Innovation. - 2015. - Vol. 3. - № 2. - P. 175-184.

24. Muratova A. Physiological and biochemical characteristic of Miscanthus giganteus grown in heavy metal–oil sludge co-contaminated soil / A. Muratova, Y. Lyubun, I. Sungurtseva, O. Turkovskaya, A. Nurzhanova // Journal of Environmental Sciences. – 2022. - Vol. 115. - P. 114-125.

25. Rusin M. Soil pollution by petroleum-derived substances and its bioremediation: The effect on Aphis fabae Scop. infestation and antioxidant response in Vicia faba L. / J. Gospodarek, A. Nadgorska-Socha // Agronomy. – 2020. - № 10(1). – P. 147.