

УДК 579.68:502.51:628.3

СКРИНИНГ АССОЦИАТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИБРЕЖНО-ВОДНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ КОЛЛЕКТОРНО-ДРЕНАЖНЫХ СЕТЕЙ И ИХ РОЛЬ В СНИЖЕНИИ ФИТОТОКСИЧНОСТИ СТОЧНЫХ ВОД

Замалетдинов Минзахид Рафикович

биотехнолог, компания «ООО Anguzal Agroservis», Республика Узбекистан,
Ташкентская обл., Кибрайский р-он., Дурмень К.Ф.Й., Юкори-Юз.,
minzakhid@yandex.com <https://orcid.org/0009-0003-8087-9878>,
ResearchID rid139635.

Гузалова Анаида Георгиевна

PhD, директор, компания «ООО Anguzal Agroservis», Республика Узбекистан,
Ташкентская обл., Кибрайский р-он., Дурмень К.Ф.Й., Юкори-Юз.,
anguzal@mail.ru <https://orcid.org/0009-0009-7562-7522>.

Новичкова Алина Александровна

биотехнолог, компания «ООО Anguzal Agroservis», Республика Узбекистан,
Ташкентская обл., Кибрайский р-он., Дурмень К.Ф.Й., Юкори-Юз.,
ell_angel@mail.ru <https://orcid.org/0009-0003-0737-9367>.

Новичкова Анна Александровна

магистрант, Ташкентский Химико-Технологический институт, Республика
Узбекистан, город Ташкент, Шайхантахурский р-он., улица Алишера Навои 32,
anni_nov@mail.ru <https://orcid.org/0009-0009-9920-337X>.

Аннотация. Работа посвящена изучению микробиоты ризосферы растений-гипераккумуляторов (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*), произрастающих в зонах влияния коллекторно-дренажных стоков Ташкентской области. Выявлено, что корневая система макрофитов в условиях комплексного загрязнения (органика, соли, сопутствующие поллютанты) аккумулирует специфические сообщества микроорганизмов-деструкторов. Выделены доминирующие штаммы родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, обладающие высоким адаптационным потенциалом и способностью к деградации ксенобиотиков. С использованием метода биотестирования (проращивание семян кресс-салата *Lepidium sativum*) доказано, что инокуляция сточных вод выделенными ассоциативными бактериями снижает их общую фитотоксичность на 30–40%, что обосновывает перспективность использования системы «растение–микроб» для биоремедиации водных объектов и повторного использования вод в орошении.

Ключевые слова: биоремедиация, сточные воды, коллекторно-дренажная сеть, ризосфера, *Phragmites australis*, *Typha*, фитотоксичность, биотестирование, ассоциативные бактерии, экологическая безопасность.

SCREENING OF ASSOCIATIVE MICROORGANISMS OF COASTAL-AQUATIC VEGETATION IN COLLECTOR-DRAINAGE NETWORKS AND THEIR ROLE IN REDUCING WASTEWATER PHYTOTOXICITY

Abstract. This study focuses on the rhizosphere microbiota of hyperaccumulator plants (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*) growing in the impact zones of collector-drainage effluents in the Tashkent region. It was found that under conditions of complex pollution (organic matter, salts, and concomitant pollutants), the root system of macrophytes accumulates specific communities of destructor microorganisms. Dominant strains of the *Pseudomonas* and *Bacillus* genera were isolated, exhibiting high adaptive potential and the ability to degrade xenobiotics. Using a bioassay method (germination of garden cress seeds, *Lepidium sativum*), it was demonstrated that inoculating wastewater with the isolated associative bacteria reduces overall phytotoxicity by 30–40%. This substantiates the viability of using the "plant-microbe" system for the bioremediation of water bodies and the reuse of water for irrigation.

Keywords: bioremediation, wastewater, collector-drainage network, rhizosphere, *Phragmites australis*, *Typha*, phytotoxicity, bioassay, associative bacteria, ecological safety.

Введение.

В условиях нарастающего дефицита водных ресурсов в Республике Узбекистан особую актуальность приобретает проблема рационального использования возвратных вод. Коллекторно-дренажные воды (КДВ), формирующиеся после промывки засоленных земель и орошения сельхозугодий, составляют значительную часть водного баланса региона. Однако использование таких вод без предварительной очистки несет серьезные экологические риски: они часто содержат сложный комплекс загрязнителей, включая минеральные соли, остатки пестицидов, органические соединения и ионы тяжелых металлов [1, 5]. Попадание этих токсикантов в оросительную сеть приводит к вторичному засолению почв, угнетению сельскохозяйственных культур и снижению качества продукции.

Традиционные физико-химические методы очистки стоков часто экономически нецелесообразны для больших объемов дренажных вод. В связи с этим все большее внимание уделяется методам фиторемедиации —

использованию естественных или искусственных биоплато (constructed wetlands), засаженных высшей водной растительностью (макрофитами). Известно, что эффективность биоплато зависит не только от сорбционной способности самого растения, но и, в значительной степени, от активности его ризосферной микрофлоры [7, 9].

Ассоциативные бактерии, обитающие на поверхности корней (ризоплана) и в прикорневой зоне (ризосфера), формируют сложный симбиотический комплекс. Растения обеспечивают микроорганизмы корневыми экссудатами (сахара, аминокислоты), создавая благоприятную питательную среду. В свою очередь, бактерии (PGPR — Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) синтезируют фитогормоны (ауксины, гиббереллины), ферменты (АСС-дезаминазу) и сидерофоры, снижая уровень стресса у растения-хозяина и участвуя в прямой деструкции органических поллютантов [6].

Целью данной работы являлся поиск активных штаммов ризосферных бактерий у доминирующих видов дикорастущих водных растений (*Phragmites*, *Typha*) в условиях Ташкентской области и оценка их способности снижать интегральную токсичность загрязненных вод с использованием чувствительного метода биотестирования.

Материалы и методы исследования.

Характеристика объекта. Полевые выезды и отбор проб проводились на коллекторах, отводящих стоки с агропромышленных территорий Ташкентской области (бассейн реки Чирчик, район сброса в канал Бозсу). Вода в точках отбора характеризовалась визуальной мутностью, наличием специфического запаха прелости и повышенной минерализацией (1,5–2,5 г/л), что свидетельствует о наличии антропогенного загрязнения.

Объекты исследования:

Для микробиологического анализа были выбраны два вида растений-гипераккумуляторов:

1. Тростник обыкновенный (*Phragmites australis*) — доминирующий вид, образующий густые заросли вдоль уреза воды, обладающий мощной корневой системой.
2. Рогоз узколистый (*Typha angustifolia*) — сопутствующий вид, произрастающий на мелководье, корни которого погружены в донные отложения.

Методика выделения микроорганизмов. Образцы корней с прилегающим илом отбирали в стерильные емкости. В лаборатории готовили серию десятикратных разведений почвенной суспензии. Посев проводили поверхностным способом на селективные питательные среды:

– Мясо-пептонный агар (МПА) — для учета общего числа гетеротрофных бактерий.

– Среда Эшби (безазотистая) — для выявления олигонитрофилов и азотфиксаторов.

– Среда Кинга Б — для селективного выделения флуоресцирующих псевдомонад (*Pseudomonas* sp.).

Инкубирование проводили при температуре 28°C в течение 3–5 суток [2].

Оценка фитотоксичности (Биотестирование). Для интегральной оценки токсичности среды и эффективности работы бактерий использовали метод проращивания семян тест-культуры. В качестве биоиндикатора был выбран кресс-салат (*Lepidium sativum*), сорт «Данский», который отличается высокой чувствительностью к загрязнению водной среды [4].

Схема опыта включала 3 варианта:

1. Контроль 1 (Чистый): Водопроводная дехлорированная вода (эталон).

2. Контроль 2 (Грязный): Нативная вода из коллектора (без обработки).

3. Опыт (Биоремедиация): Вода из коллектора, предварительно инокулированная суспензией выделенных бактерий (титр 10^7 КОЕ/мл) и инкубированная в аэробных условиях в течение 48 часов.

В чашки Петри на фильтровальную бумагу помещали по 50 семян кресс-салата, увлажняя их 5 мл исследуемой жидкости. Энергию прорастания определяли на 3-и сутки, лабораторную всхожесть и морфометрические показатели (длину корней и проростков) — на 5-е сутки.

Результаты и их обсуждение.

1. Микробиологическая характеристика ризосферы.

Анализ численности микроорганизмов показал ярко выраженный «ризосферный эффект»: концентрация бактерий в зоне корней водных растений на несколько порядков превышала их содержание в свободной толще воды. Результаты количественного учета представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Численность основных групп микроорганизмов в воде и ризосфере макрофитов (КОЕ/мл или КОЕ/г влажного субстрата).

Объект исследования	Гетеротрофы (МПА)	Псевдомонады (<i>Pseudomonas</i> sp.)	Споровые (<i>Bacillus</i> sp.)
Вода коллектора (свободная зона)	$4,2 \pm 0,5 \times 10^4$	$1,5 \pm 0,3 \times 10^3$	$2,0 \pm 0,4 \times 10^3$
Ризосфера Тростника (<i>Phragmites</i>)	$6,8 \pm 0,9 \times 10^7$	$5,4 \pm 0,7 \times 10^6$	$3,1 \pm 0,5 \times 10^6$
Ризосфера Рогоза	$3,5 \pm 0,6 \times 10^7$	$2,1 \pm 0,4 \times 10^6$	$8,9 \pm 1,2 \times 10^5$

(Typha)			
---------	--	--	--

Как видно из таблицы, ризосфера тростника (*Phragmites australis*) является наиболее активной зоной колонизации. Численность псевдомонад здесь достигает 5,4 млн клеток в 1 г почвы, что превышает показатели в свободной воде более чем в 1000 раз. Высокая плотность популяции *Pseudomonas* sp. имеет важное экологическое значение, так как представители этого рода известны своей способностью утилизировать широкий спектр органических поллютантов, включая фенолы и пестициды [8, 10].

При анализе чашек Петри были выделены доминирующие типы колоний:

– Тип 1: Крупные, распластанные, матовые колонии с неровным краем (R-формы), отнесенные при микроскопировании к грамположительным спорным палочкам рода *Bacillus*.

– Тип 2: Гладкие, блестящие, полупрозрачные колонии, выделяющие в среду желто-зеленый пигмент (флуоресцеин), характерный для рода *Pseudomonas*.

2. Биотестирование токсичности и оценка биоремедиации.

Метод проращивания семян позволил наглядно оценить степень токсичности коллекторной воды и эффективность её биологической очистки выделенными штаммами. Данные биометрического анализа проростков представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Влияние качества воды на всхожесть и морфометрию проростков *Lepidium sativum* (на 5-е сутки).

Вариант опыта	Всхожесть, %	Длина корешка, мм	Ингибирование роста корней, % (к контролю)
Водопроводная вода (Чистый контроль)	96 ± 2,0	45 ± 3,2	—
Коллекторная вода (Нативная)	52 ± 4,5	18 ± 2,1	60%
Коллекторная вода + <i>Pseudomonas</i> sp. (Опыт)	84 ± 3,8	36 ± 2,9	20%

Нативная вода из коллектора (Контроль 2) проявила острую фитотоксичность. Всхожесть семян снизилась почти в 2 раза по сравнению с чистой водой. Наиболее чувствительным параметром оказалась длина главного корня: в грязной воде корни были укороченными, утолщенными, с признаками некроза (побурение кончиков), а их длина составила всего 18 мм

(ингибирование 60%). Это свидетельствует о наличии в воде ингибиторов роста, вероятно, сложной химической природы.

В опытном варианте, где коллекторная вода была предварительно обработана суспензией выделенного штамма *Pseudomonas* sp. в течение 48 часов, наблюдалось достоверное улучшение показателей. Всхожесть восстановилась до 84%, а ингибирование роста корней снизилось с 60% до 20%. Морфология проростков была близка к норме: корни белые, без некрозов, развита корневая шейка.

Полученный эффект можно объяснить двумя факторами:

1. Биодеструкция: Бактерии за 48 часов минерализовали часть токсичных органических соединений, снизив химическую нагрузку.
2. Стимуляция: Бактерии *Pseudomonas* sp. могли выделить в среду фитогормоны (ауксины), которые стимулировали деление клеток корня тест-культуры, компенсируя действие токсикантов [6].

Выводы.

1. Ризосфера прибрежно-водных растений (*Phragmites australis*, *Typha angustifolia*) в условиях антропогенно нагруженных коллекторов Ташкентской области является мощным природным биофильтром, концентрирующим специфические сообщества микроорганизмов-деструкторов (преимущественно родов *Pseudomonas* и *Bacillus*).

2. Использование метода биотестирования на семенах кресс-салата доказало высокую фитотоксичность нативных коллекторно-дренажных вод (ингибирование роста корней до 60%), что делает их опасными для прямого орошения чувствительных культур.

3. Предварительная биологическая обработка сточных вод выделенными ассоциативными бактериями (*Pseudomonas* sp.) позволяет снизить их фитотоксичность в 3 раза (ингибирование снижается до 20%). Это открывает перспективы для создания биотехнологических препаратов, повышающих эффективность работы биоплато и очистных сооружений.

Список литературы.

1. Чембарис А.С. Фиторемедиация водных объектов: возможности и перспективы. — М.: Наука, 2012. — 180 с.
2. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. — М.: Академия, 2005. — 608 с.
3. Отарбаев Д.О., Новичкова А.А., Гузалова А.Г. Поиск солеустойчивых ассоциативных ризосферных бактерий в условиях засоленных почв Каракалпакстана // *Universum: химия и биология*. — 2024. — № 6.

4. Фомин Г.С. Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. Энциклопедический справочник. — М.: Протектор, 2010. — 980 с.
5. Яковлев С.В., Карелин Я.А. Биологическая очистка производственных сточных вод. — М.: Стройиздат, 1985.
6. Kloepper J.W., Ryu C.M., Zhang S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. // *Phytopathology*. — 2004. — Vol. 94. — P. 1259–1266.
7. Schroder P., Navarro-Avis P. et al. Using phytoremediation technologies to upgrade waste water treatment in Europe // *Environmental Science and Pollution Research*. — 2007. — Vol. 14. — P. 490–497.
8. Dhote S., Dixit S. Water quality improvement through macrophytes—a review // *Environmental Monitoring and Assessment*. — 2009. — Vol. 152. — P. 149–153.
9. Glick B.R. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment // *Biotechnology Advances*. — 2003. — Vol. 21. — P. 383–393.
10. Wang Q. et al. Phytoremediation of water pollutants using aquatic plants // *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. — 2014. — Vol. 49. — P. 1289–1300.
11. Greenberg B.M. et al. The role of PGPR in phytoremediation of hydrocarbons // *International Journal of Phytoremediation*. — 2006. — Vol. 8. — P. 115–125.