

## ПОЧВЕННО-АГРОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННОЙ МЕДЬЮ ПОЧВЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РОСТСТИМУЛИРУЮЩИХ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2025 г. В. П. Шабает\*, В. Е. Остроумов<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,  
ул. Институтская, 2, Московская область, Пушкино, 142290 Россия

\*e-mail: vpsh@rambler.ru

Поступила в редакцию 19.04.2024 г.

После доработки 25.09.2024 г.

Принята к публикации 26.09.2024 г.

Изучено влияние внесения ростстимулирующих ризосферных бактерий рода *Pseudomonas* на рост и химический состав растений яровой пшеницы при искусственном загрязнении нитратом меди в повышенном количестве, из расчета 300 мг/кг гумусового горизонта агросерой почвы (Luvic Retic Greyzemc Phaeozems (Loamic)) в вегетационном опыте. Применение бактерий *P. fluorescens* SV20, *P. fluorescens* SV21 и *P. putida* SV23 значительно уменьшило токсическое действие меди в первой половине вегетационного периода. Повышение устойчивости растений к внесению нитрата меди при применении бактерий было обусловлено увеличением выноса растениями N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn и Zn из загрязненной почвы без существенных изменений концентраций большинства элементов в растениях и реакции почвенной среды. Положительное действие бактерий также связано с увеличением накопления меди в корнях — усилением барьерной способности корневой системы по отношению к металлу. Бактерии увеличили нахождение меди в почве, главным образом, в составе специфически сорбированной и связанной с железистыми минералами фракциями и, в меньшей мере, во фракции, связанной с органическим веществом, и уменьшили содержание металла в остаточной фракции, прочно связанной с глинистыми минералами, при определении методом последовательных селективных экстракций. Бактерии усилили фитоэкстракцию — очистку загрязненной почвы, увеличивая поглощение меди вегетативными органами растений. Применение бактерий может быть рекомендовано при разработке стратегий ремедиации загрязненных медью почв на основе экологически безопасных технологий.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas*, яровая пшеница, агросерая почва, медь азотнокислая, медь в растениях и почвенных фракциях, химический состав растений

**DOI:** 10.31857/S0032180X25020114, **EDN:** COJAKN

### ВВЕДЕНИЕ

Продолжающаяся индустриализация, интенсивное ведение сельского хозяйства и другая антропогенная деятельность приводят к загрязнению окружающей среды, в том числе почв тяжелыми металлами (ТМ) [2]. ТМ оказывают серьезное токсическое воздействие на растения, животных и здоровье человека. Поэтому ремедиация почв, загрязненных токсичными ТМ, в том числе медью (Cu), приобретает особо важное значение. Cu является одним из биологически значимых и необходимых элементов для растений, однако в повышенных концентрациях вызывает физиологические и биохимические нарушения в растениях, замедляет их

рост [13]. Для ремедиации загрязненных ТМ почв и увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур исследуют стимулирующие рост растений ризосферные бактерии (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) [14, 15, 23]. Биоремедиация загрязненных ТМ почв вызывает значительный интерес, поскольку это экологически безопасный и эффективный метод восстановления окружающей среды с использованием внутренних биологических механизмов микроорганизмов и растений [21, 27, 28]. Применение PGPR играет важную роль в увеличении толерантности растений к токсическому действию повышенных концентраций в почве ТМ [19]. Кроме того, процесс фиторемедиации,

основанный на применении растений, является одним из способов удаления загрязнителей, в том числе ТМ из почвы, эффективность которого усиливается при совместном использовании растений с ризобактериями [20, 26].

Представители PGPR рода *Pseudomonas* привлекают особое внимание благодаря широкой распространенности в почве и наличию полезных для растений свойств [15, 19]. Сообщается, что *Pseudomonas* обладают высокой устойчивостью к ТМ и имеют высокий биоремедиационный потенциал, в том числе в ассоциациях с различными видами растений [25]. Применение PGPR рода *Pseudomonas* существенно уменьшало фитотоксичность и повышало устойчивость растений к отравляющему действию различных ТМ [10, 11]. Установлены значительное улучшение ростовых параметров растений и увеличение потребления ими Си после инокуляции подсолнечника и рапса соответственно ростстимулирующей ризосферной бактерией *P. lurida* штаммом E0026 [17] и *P. thivervalensis* [24] при загрязнении почв ТМ. Однако в настоящее время несмотря на то, что имеются данные [15, 19, 25], свидетельствующие о значительной стимуляции роста растений благодаря PGPR при загрязнении почв ТМ, исследований растительных и почвенных механизмов ремедиации загрязненных металлами почв под влиянием этих бактерий проведено недостаточно.

Цель работы — изучение влияния внесения PGPR рода *Pseudomonas* на рост, минеральное питание растений яровой пшеницы, усвоение растениями и фракционный состав соединений Си в почве при ее загрязнении ТМ в форме нитрата как возможной основы для разработки экологически безопасной технологии ремедиации загрязненной Си агросерой почвы.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Растения яровой пшеницы *Triticum aestivum* L., сорта Злата (ФИЦ “Немчиновка”) выращивали на агросерой почве юга Московской области в вегетационном опыте при искусственном загрязнении  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , квалификации “х.ч.” (Реахим, Россия). В сосудах, содержащих 0.8 кг почвы, выращивали по 9 растений до фазы выхода в трубку в течение 27 сут. В работе испытывали влияние на массу растений, содержание в них Си и других биофильных элементов, применения ростстимулирующих и повышающих урожай различных культурных растений бактерий *P. fluorescens* SV 20, *P. fluorescens* SV 21 и *P. putida* SV 23 из личной коллекции Шабаева [9] на фоне внесения ТМ. При посеве стерилизованные пророщенные семена раскладывали на почве и инокулировали водными суспензиями чистых культур бактерий. На каждое семя вносили по 1 мл бактериальной суспензии

с концентрацией клеток  $10^8$  кл./мл — из расчета  $10^8$  кл./растение. В вариантах опыта без внесения бактерий применяли аналогичным образом автоклавированные бактериальные суспензии.

В контрольном варианте растения выращивали без внесения Си и бактерий, во втором варианте — с внесением Си без бактерий, в остальных вариантах при загрязнении почвы Си с внесением каждой из вышеупомянутых бактерий. Доза меди составляла 300 мг элемента на 1 кг почвы. В предыдущих опытах такая доза достоверно показала ингибирование роста растений. Это соответствовало 2.3 ориентировочно-допустимой концентрации (ОДК) для данного типа почв [6]. С использованной солью Си было внесено 106 мг N/сосуд, поэтому в контрольном варианте (без внесения  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  и бактерий) применяли азот в виде  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , в такой же дозе, какая была использована в загрязненных вариантах. Таким образом, доза азота была выровнена и одинакова во всех вариантах опыта. Растения во всех вариантах выращивали на фоне внесения РК-удобрений в виде однозамещенного фосфорнокислого калия и сернокислого калия по 106 мг действующего вещества/сосуд, исходя из соотношения N : P : K = 1 : 1 : 1. Все соли были внесены за 10 сут до посева семян. В опыте использовали пахотную, среднесуглинистую агросерую почву (Luvic Retic Greyzemis Phaeozems (Loamic)), (слой 0–20 см), на которой в предшествующий год выращивали ячмень. Почва имела следующие показатели:  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  6.14,  $\text{C}_{\text{орг}}$  — 0.95%,  $\text{N}_{\text{вал}}$  — 0.15%, обменные основания Ca — 11.06, Mg — 1.52, K — 0.45 смоль (+)/кг, подвижные  $\text{P}_2\text{O}_5$  и  $\text{K}_2\text{O}$  (0.2 н. HCl) — 7.37 и 11.23 мг/100 г почвы соответственно. Почва характеризовалась следующим гранулометрическим составом фракций, %: 1–0.25 мм — 0.61, 0.25–0.05 мм — 6.03, 0.05–0.01 мм — 54.10, 0.01–0.005 мм — 11.08, 0.005–0.001 мм — 10.59, <0.001 мм — 17.59. Плотность твердой фазы почвы — 2.76 г/см<sup>3</sup>.  $\text{C}_{\text{орг}}$  и  $\text{N}_{\text{вал}}$  исходной почвы определяли на анализаторе Vario EL Cube 19.10-0000 (Германия), содержание доступных форм питательных элементов и физических свойств исходного образца почвы устанавливали общепринятыми методами. Влажность почвы в сосудах в течение вегетационного периода поддерживали поливами в пределах 60–80% ППВ (21–28 мас. %). Повторность опыта четырехкратная.

Вегетативную массу (листья и стебли) срезали в фазе трубкования, корни отмывали от почвы водопроводной, затем дистиллированной водой. Растительный материал высушивали при 70°C и взвешивали. Вегетативную массу и корни (0.5 г) озоляли в смеси концентрированных кислот  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HClO}_4$  (2 : 1), далее анализировали на содержание Си, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn и Zn. В растительном материале определяли содержание азота феноловым методом после сжигания (0.1 г) в разбавленной серной

кислоте (1 : 2) с катализатором ( $K_2SO_4$  : Zn : Se :  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  = 100 : 24 : 2 : 0.2). Для расчета усвоения всех элементов растениями их концентрацию (% , мг/кг) умножали на массу растений. В почве методом последовательных селективных экстракций фракционировали соединения Си. Были выделены следующие фракции Си: водорастворимая, обменная (экстрагент — 0.05 М  $Ca(NO_3)_2$ ), специфически сорбированная, связанная с карбонатами (2.5%  $CH_3COOH$ ), связанная с органическим веществом (0.1 М  $K_4P_2O_7$ ) и связанная с железистыми минералами (реактив Тамма при ультрафиолетовом облучении) [8]. Содержание Си в остаточной фракции, прочно связанной с глинистыми минералами, устанавливали по разности между внесенным в почву количеством ТМ и его суммой в выделенных фракциях. Содержание Си и других зольных элементов (кроме калия) устанавливали методом эмиссионно-оптической спектроскопии индуктивно-связанной плазмы на спектрометре ICP-OES 5110 (Agilent, США), калия — пламенной фотометрии на пламенном фотометре BWB XR (BWB, Великобритания). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета MS Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При загрязнении почвы Си в форме нитрата установлено значительное ингибирование роста яровой пшеницы в фазе трубкования (табл. 1). Это выражалось в уменьшении массы вегетативных органов (суммы листьев и стеблей) на 26% и целых растений — на 24% относительно контроля — без загрязнения ТМ и бактериальных инокуляций. Применение бактерий уменьшило токсическое действие Си и стимулировало рост растений. Внесение бактерий увеличило вегетативную массу растений в загрязненных условиях на 13–16% по сравнению с вариантом с загрязнением ТМ без бактериальных инокуляций. Бактерии при загрязнении почвы Си также способствовали лучшему росту корневой системы — масса корней увеличилась на 20–24%.

Загрязнение Си почвы вне зависимости от внесения бактерий в среднем до 1.5 раз увеличило содержание ТМ в вегетативной массе по сравнению с контролем (табл. 2). Под влиянием бактерий этот показатель в загрязненных растениях не изменился, за исключением некоторого увеличения в варианте с *P. fluorescens* 21. По сравнению с контролем (без Си и бактерий) в варианте без внесения бактерий содержание Си в корнях загрязненных растений увеличилось в значительно большей степени, чем в вегетативной массе — в 17 раз, при внесении бактерий — в 18–19 раз. Применение бактерий в загрязненных условиях повысило усвоение Си вегетативной массой (мкг/сосуд) на

17–30%, в наибольшей степени в варианте с *P. fluorescens* 21 по сравнению с вариантом с загрязнением ТМ без бактерий.

Таким образом, бактерии увеличили усвоение Си вегетативной массой растений из загрязненной почвы, тем самым усилили фитоэкстракцию — очистку почвы от ТМ. При внесении Си без бактерий накопление ТМ в корневой системе повысилось в 11 раз. Усвоение Си корневой системой вне зависимости от внесения бактерий из-за его более высокого содержания в корнях было в 6–8 раз больше, чем вегетативной массой. Накопление Си в вегетативной массе было на порядок меньше по сравнению с корневой системой вследствие в несколько раз большего содержания ТМ в корнях. Поэтому на границе вегетативная масса—корень была обнаружена сравнительно меньшая барьерная способность к ТМ. Корневая система растений при загрязнении почвы Си вне зависимости от применения бактерий показала значительную барьерную способность — увеличилось накопление ТМ в корнях более, чем на порядок. Внесение бактерий привело к дальнейшему увеличению усвоения Си корневой системой растений в 1.6 раза больше по сравнению с вариантом Си без бактерий, приводя к усилению барьерной способности корней.

Загрязнение почвы Си оказало существенное влияние на содержание питательных элементов в вегетативной массе не инокулированных бактериями растений в фазе выхода в трубку относительно контрольного варианта (табл. 3). Это свидетельствует о влиянии повышенной концентрации Си на метаболические процессы в растениях и о нарушении механизмов поглощения элементов растениями. Загрязнение почвы Си без внесения бактерий уменьшило в обоих органах растений относительно контроля содержание фосфора, азота и Zn, однако увеличило содержание Са и этот показатель для К в вегетативной массе, одновременно понизив его в корнях. Отмеченное проявление антагонизма меди и фосфора, вероятно, связано со свойством избыточных концентраций Си ингибировать в растениях активность фермента фосфатазы, определяющей доступность фосфора растениям [16]. Содержание Mg, Fe и Mn в растениях при загрязнении почвы Си без бактерий значимо не изменялось. Увеличение содержания отдельных элементов в загрязненных неинокулированных растениях под влиянием высокого количества Си было связано с уменьшением массы растений вследствие значимого угнетения их роста. Напротив, внесение всех бактерий при загрязнении почвы Си относительно варианта с Си без бактерий не повлияло на содержание в вегетативных органах большинства изученных питательных элементов. При этом под воздействием применения всех бактерий в обоих органах загрязненных ТМ растений увеличилось только содержание К. В корнях вне зависимости

**Таблица 1.** Масса растений яровой пшеницы в фазе трубкования

Вариант	Вегетативная масса	Корни	Целое растение
	сухое вещество, г/сосуд		
Без внесения Cu и бактерий – контроль	2.65	0.61	3.26
Cu без внесения бактерий	2.01	0.41	2.42
Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	2.32	0.50	2.82
Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	2.28	0.49	2.77
Cu + <i>P. putida</i> 23	2.33	0.51	2.84
НСП <sub>05</sub>	0.26	0.08	0.34

**Таблица 2.** Содержание в растениях и усвоение Cu биомассой в фазе трубкования

Вариант	Содержание Cu в растениях, мг/кг		Усвоение Cu растениями, мкг/сосуд	
	вегетативная масса	корни	вегетативная масса	корни
Без внесения Cu и бактерий – контроль	11	24	29	15
Cu без внесения бактерий	15	399	30	164
Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	15	456	35	263
Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	17	441	39	255
Cu + <i>P. putida</i> 23	15	440	35	259
НСП <sub>05</sub>	2	60	4	31

**Таблица 3.** Содержание питательных элементов в вегетативной массе и корнях растений в фазе трубкования

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
	%					мг/кг		
Вегетативная масса								
Без Cu и внесения бактерий — контроль	4.21	0.51	3.76	0.92	0.27	113	54	33
Cu без внесения бактерий	3.90	0.40	4.49	1.23	0.26	106	57	26
Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	3.99	0.40	4.94	1.19	0.27	112	57	25
Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	4.21	0.42	4.99	1.24	0.28	110	58	28
Cu + <i>P. putida</i> 23	4.01	0.38	4.83	1.18	0.27	105	54	25
НСП <sub>0.5</sub>	0.30	0.08	0.30	0.25	0.02	5	5	4
Корни								
Без Cu и внесения бактерий — контроль	2.74	0.46	1.74	1.10	0.51	0.58	187	89
Cu без внесения бактерий	2.20	0.35	1.19	1.56	0.55	0.50	176	70
Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	2.14	0.36	1.33	1.63	0.62	0,60	201	75
Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	2.30	0.39	1.51	1.37	0.58	0.55	195	72
Cu + <i>P. putida</i> 23	2.25	0.38	1.35	1.47	0.50	0.57	189	77
НСП <sub>0.5</sub>	0.40	0.07	0.13	0.19	0.03	0.10	25	13

Примечание. Среднее из четырех повторностей опыта. Содержание Fe в корнях дано в процентах.

от использования бактерий содержалось на порядок больше Fe по сравнению с вегетативной массой. Вероятно, это обусловлено биологическими особенностями яровой пшеницы.

Избыточное содержание ТМ, оказывая негативное влияние на основные физиолого-биохимические процессы в растениях, может приводить к нарушению поступления в них биофильных элементов [22]. При загрязнении почвы Cu без применения бактерий по сравнению с контролем установлено существенное уменьшение усвоения из почвы вегетативной массой, корнями и в сумме целыми растениями большинства исследованных питательных элементов, за исключением Ca (табл. 4). При этом для K этот показатель в вегетативной массе не был подвергнут значимым изменениям при более чем двукратном его уменьшении в корневой системе. Напротив, использование всех бактерий в загрязненных условиях значительно повысило усвоение всех питательных элементов как вегетативной массой, так и корневой системой растений по сравнению с вариантом загрязнения почвы Cu без бактерий. Под влиянием бактерий усвоение элементов корнями увеличилось в значительно большей степени, чем вегетативными органами. Корневая система характеризовалась существенно большим накоплением Fe так же, как его содержанием в растениях. Уменьшение токсического действия Cu и увеличение массы инокулированных бактериями растений, несомненно, связано с увеличением усвоения биофильных элементов растениями из почвы – улучшением их минерального питания. Установлено, что применение оптимально подобранных агрохимических средств снимает фитотоксический эффект загрязнения почвы избыточным количеством Cu (5 ПДК) в виде  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Микроорганизмы, связанные с растениями, могут стимулировать их рост, улучшая минеральное питание растений [12]. Стимулирующее рост растений поглощение основных питательных элементов (Fe, P, K), опосредованное *Pseudomonas*, направлено на противодействие стрессам сельскохозяйственных культур вследствие увеличения подвижности в почве и биодоступности макро- и микроэлементов, чтобы растения могли использовать питательные элементы для своего роста [22]. Увеличение усвоения биофильных элементов растениями из загрязненной почвы при внесении всех бактерий происходило вследствие увеличения массы растений без существенных изменений содержания элементов в вегетативной массе и корнях. Известно, что при увеличении урожая из-за биологического разведения происходит уменьшение концентрации элемента или загрязнителя в растениях [1]. В противоположность этому в настоящих исследованиях при загрязнении почвы Cu внесение всех бактерий не приводило к существенным изменениям содержания в

вегетативных органах и корнях практически всех изученных питательных элементов, несмотря на увеличение при этом массы растений. Исключение составило достоверное увеличение этого показателя для K в обоих органах растений, что, вероятно, происходило вследствие увеличения подвижности этих элементов в почве. Стимуляция роста растений под влиянием бактерий рода *Pseudomonas*, происходящая в целом без изменения концентрации большинства биофильных элементов в растениях, могла быть обусловлена продуцированием бактериями физиологически активных соединений – фитогормонов и других веществ [31], в частности индолуксусной кислоты [5]. Установлено, что при стимулировании роста растений на загрязненной Cd и Ni почве под влиянием применения PGPR рода *Pseudomonas* происходило улучшение минерального питания растений, в целом без существенных изменений содержания большинства исследованных питательных элементов в растениях [10, 11].

Анализ распределения по фракциям показал, что медь была обнаружена во всех выделенных фракциях почвы примерно через месяц после выращивания растений (табл. 5). 34–44% от внесенной дозы металла сосредотачивались во фракции, связанной с органическим веществом. В модельном эксперименте при внесении нитрата меди в дерново-подзолистую почву и чернозем металл был представлен во всех выделенных фракциях. Главным образом медь определялась во фракции, связанной с органическим веществом, и в меньшей мере – в остальных фракциях [3, 4]. Внесение бактерий оказало существенное влияние на распределение в почве Cu. Под влиянием бактерий обнаружено увеличение в 1.4–1.5 раза содержания Cu в специфически сорбированной фракции, связанной с карбонатами. Кроме того, внесение бактерий *P. fluorescens* SV20 и *P. fluorescens* SV21 увеличило в 1.8–2.5 раза содержание ТМ во фракции, связанной с железистыми минералами. В варианте с *P. putida* SV23 этот показатель увеличился в 1.4 раза. Бактерии в меньшей степени увеличили содержание Cu во фракции, связанной с органическим веществом – на 11–28%. Вследствие всех этих изменений в вариантах с бактериями содержание ТМ в остаточной фракции уменьшилось от 43.2 до 15.3–24.6% от внесенной дозы и составило 37–60% по отношению к варианту без применения бактерий. Таким образом, при внесении бактерий существенная часть ТМ после месяца выращивания растений сосредотачивалась в относительно подвижных формах, при этом уменьшаясь в остаточной фракции.

Увеличение усвоения Cu вегетативной массой и корневой системой инокулированных бактериями рода *Pseudomonas* растений, вероятно, было обусловлено увеличением подвижности в почве ТМ, о чем свидетельствуют, прежде всего, уменьшение

**Таблица 4.** Усвоение питательных элементов вегетативной массой и корнями растений в фазе трубкования

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn		
	мг/сосуд				мкг/сосуд					
Вегетативная масса	Без Cu и внесения бактерий – контроль	112	14	100	24	715	300	143	88	
	Cu без внесения бактерий	78	8	90	25	522	213	115	52	
	Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	93	9	115	28	626	260	132	58	
	Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	96	10	114	28	638	251	132	64	
	Cu + <i>P. putida</i> 23	94	9	113	28	629	245	126	58	
	HCP <sub>0,5</sub>	12	1	20	3	89	30	10	6	
	Корни	Без Cu и внесения бактерий – контроль	17	3	11	7	311	3580	114	54
		Cu без внесения бактерий	9	1	5	6	226	2050	72	29
		Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	11	2	7	8	310	3000	101	38
		Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	11	2	7	7	284	2695	96	35
Cu + <i>P. putida</i> 23		12	2	7	8	255	2907	96	39	
HCP <sub>0,5</sub>		2	1	1	1	25	512	17	7	
Целое растение	Без Cu и внесения бактерий – контроль	129	17	111	31	1066	3880	142	142	
	Cu без внесения бактерий	87	9	95	31	748	2263	81	81	
	Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	104	11	122	36	936	3260	96	96	
	Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	107	12	121	35	922	2946	99	99	
	Cu + <i>P. putida</i> 23	108	11	120	35	884	3152	97	97	
	HCP <sub>0,5</sub>	14	2	15	4	105	459	13	13	

**Таблица 5.** Фракционный состав соединений Cu в почве в фазе трубкования

Вариант	Фракция Cu в почве					
	водорастворимая	обменная	специфически сорбированная	связанная с органическим веществом	связанная с железистыми минералами	остаточная
Cu без внесения бактерий – контроль	<u>0.6</u> 0.2	<u>0.7</u> 0.2	<u>26.0</u> 8.7	<u>102</u> 34	<u>41</u> 14	<u>124</u> 43
Cu + <i>P. fluorescens</i> 20	<u>0.9</u> 0.3	<u>0.5</u> 0.2	<u>37.8</u> 12.6	<u>113</u> 38	<u>102</u> 34	<u>46</u> 15
Cu + <i>P. fluorescens</i> 21	<u>0.9</u> 0.3	<u>0.4</u> 0.1	<u>36.1</u> 12.0	<u>120</u> 40	<u>74</u> 25	<u>69</u> 23
Cu + <i>P. putida</i> 23	<u>0.9</u> 0.3	<u>0.4</u> 0.1	<u>37.0</u> 12.3	<u>132</u> 44	<u>56</u> 19	<u>74</u> 25
HCP <sub>0.5</sub>	0.4	0.4	2.6	8.8	5.7	9.0

Примечание. Над чертой – мг/кг почвы, под чертой – % от внесенного количества.

его доли и содержания в остаточной фракции и увеличенное содержание ТМ в почве в других формах, кроме водорастворимой и обменной фракций. PGPR способны влиять на подвижность в почве и биодоступность металлов через процессы подкисления, комплексообразования, осаждения и окислительно-восстановительные реакции [18, 30, 31]. Продуцирование PGPR ряда веществ, в том числе сидерофоров — низкомолекулярных органических соединений, также переводит ТМ в растворимые и биодоступные формы и наряду с другими полезными свойствами ризобактерий стимулирует рост растений, а также уменьшает неблагоприятное действие ТМ [18, 30, 31]. Установлено, что дитиокарбоновая кислота — сидерофор, продуцируемый *Pseudomonas* spp., образует растворимые комплексы с Cr, Cu, Fe, Mn, Ni и Zn, но осаждает из раствора Cd, Pb и As [30]. Повышенное содержание Cu в почве в составе специфически сорбированной фракции и в связанных с железистыми минералами и органическим веществом фракциях при внесении всех бактерий, вероятно, ассоциировано с продуцированием бактериальных сидерофоров, которые образуют растворимые комплексы с Cu. Большее усвоение Cu растениями при применении бактерий, а, следовательно, усиление фитоэкстракции было обусловлено тем, что значительная часть ТМ сосредотачивалась в почве в вышеупомянутых относительно подвижных формах, уменьшаясь при этом в остаточной фракции и, вероятно, вследствие этого увеличивая ее биодоступность и подвижность в почве.

При загрязнении почвы Cu в вариантах с внесением бактерий после срезания растений в фазе трубкования рН почвы находился в пределах 6.14–6.20, а в вариантах без внесения бактерий 6.17–6.19. Таким образом, увеличение аккумуляции Cu в вегетативной массе растений происходило без существенных изменений реакции почвенной среды. Вероятно, это обусловлено увеличением подвижности меди в почве и ее биодоступности вследствие продуцирования бактериями органических экзометаболитов — сидерофоров, свойственных флуоресцирующим видам *Pseudomonas* [14, 29, 31]. Загрязнение почвы Cu без бактериальных инокуляций также не оказывало значимого влияния на данный показатель по сравнению с исходной почвой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Внесение ростстимулирующих ризосферных бактерий *P. fluorescens* SV20, *P. fluorescens* SV21 и *P. putida* SV23 в искусственно загрязненную медью в форме нитрата агросерую почву в дозе 300 мг/кг повысило устойчивость растений яровой пшеницы к токсическому действию металла на фоне увеличении массы растений.

2. Положительное действие бактерий было обусловлено улучшением минерального питания инокулированных бактериями растений — увеличением усвоения вегетативной массой и корневой системой биофильных элементов N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn и Zn из загрязненной почвы, а также увеличением накопления меди в корнях — усилением барьерной способности корневой системы к ТМ. Это говорит об ответной протекторной реакции инокулированных бактериями растений на загрязнение почвы.

3. Увеличение усвоения биофильных элементов растениями из загрязненной медью почвы при внесении бактерий происходило вследствие стимуляции роста растений и увеличения растительной биомассы, в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в вегетативных органах и корневой системе.

4. Внесение бактерий усилило фитоэкстракцию меди из почвы за счет поступления в надземную биомассу и одновременно увеличило накопление элемента в корнях.

5. При применении бактерий увеличилось содержание меди в почве в специфически сорбированной и связанной с железистыми минералами фракциях и, в меньшей мере, во фракции, связанной с органическим веществом. Уменьшилось содержание металла в остаточной фракции, прочно связанной с глинистыми минералами, при фракционировании почвы методом последовательных селективных экстракций.

6. Увеличение усвоения меди растениями из почвы при внесении бактерий — усиление фитоэкстракции — соответствовало увеличению накопления металла в составе вышеупомянутых относительно подвижных форм и его уменьшению в составе остаточной фракции, что происходило без значимых изменений реакции почвенной среды.

## БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят ЦКП ИФХиБПП РАН за определение химических и физических свойств исходного образца почвы. Авторы выражают признательность д.с.-х.н. Н.В. Давыдовой, ФИЦ “Немчиновка” за предоставление высококачественных семян для проведения опыта.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзаданий № 121040500038-3 и 121041500050-3.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

# КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев Ю.В. Качество растениеводческой продукции. Л.: Колос, 1978. 256 с.
2. Ильин В.Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва—растение. Новосибирск: СО РАН, 2012. 220 с.
3. Ладонин Д.В. Фракционный состав тяжелых металлов в почвах, загрязненных оксидами и легко-растворимыми солями в модельном эксперименте // Формы соединений тяжелых металлов в техногенно-загрязненных почвах. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2019. 312 с.
4. Ладонин Д.В., Карпунин М.М. Фракционный состав соединений никеля, меди, цинка и свинца, загрязненных оксидами и растворимыми солями металлов // Почвоведение. 2011. № 8. С. 953–965.
5. Олюнина Л.Н., Шабает В.П. Продуцирование индолил-3-уксусной кислоты ризосферными бактериями рода *Pseudomonas* в процессе роста // Микробиология. 1996. Т. 65. № 6. С. 813–817.
6. Ориентировочно-допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве. Гигиенические нормативы ГН 2.1.7.2042–06. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2006. 11 с.
7. Парубец Ю.С., Карпова Е.А., Ермаков А.А., Шохин В.В. Влияние фосфорных удобрений на состояние цинка и меди в системе “загрязненная почва — растения” // Проблемы агрохимии и экологии. 2012. № 3. С. 9–14.
8. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Воробьевой Л.А. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.
9. Шабает В.П. Микробиологическая азотфиксация и рост растений при внесении ризосферных микроорганизмов и минеральных удобрений // Почвенные процессы и пространственно-временная организация почв. М.: Наука, 2006. С. 195–211.
10. Шабает В.П., Бочарникова Е.А., Остроумов В.Е. Ремедиация загрязненной кадмием почвы при применении стимулирующих рост растений ризобактерий и природного цеолита // Почвоведение. 2020. № 6. С. 738–750.  
<https://doi.org/10.31857/S0032180X20060118>
11. Шабает В.П., Остроумов В.Е. Почвенно-агрохимические аспекты ремедиации загрязненной никелем почвы при применении ростстимулирующих ризосферных бактерий // Почвоведение. 2023. № 2. С. 226–239.  
<https://doi.org/10.31857/S0032180X22600925>
12. Chandel A.K., Chen H., Sharma H.Ch., Adhikari K., Gao B. Beneficial Microbes for Sustainable Agriculture // Microbes for Sustainable Development and Bioremediation. Raton: CRC Press. 2020. 386 p.  
<https://doi.org/10.1201/9780429275876>
13. Cruz F.J.R., Ferreira R.L. da Cruz, Conceicao S.S. et al. Copper toxicity in plants: Nutritional, physiological and biochemical aspects // Adv. Plant Mechanisms. 2022. 370 p.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.105212>
14. Dutta P., Muthukrishnan G., Sabarinathan K.G. KG., Rajakumar D. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and its mechanisms against plant diseases for sustainable agriculture and better productivity // Biocell. 2022. V. 46. № 8. P. 1843–1859.  
<https://doi.org/10.32604/biocell.2022.019291>
15. Dorjey S., Dolkar D., Sharma R. Plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas*: A review // Int. J. Current Microbiol. Appl. Sci. 2017. V. 6. № 7. P. 1335–1344.  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.160>
16. Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants. 4th Edition. 2010. Boca Raton: CRC Press. 548 p.  
<https://doi.org/10.1201/b10158>
17. Kumar A., Tripti, Voropaeva O., Maleva M., Panikovskaya K, Borisova G., Rajkumar M., Bruno L.B. Bioaugmentation with copper tolerant endophyte *Pseudomonas lurida* strain EOO26 for improved plant growth and copper phytoremediation by *Helianthus annuus* // Chemosphere. 2021. V. 266. P. 128983.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128983>
18. Mishra J., Singh R., Arora N.K. Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms. Mini review article. Sec. Microbial Symbioses // Front. Microbiol. 2017. 8.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01706>
19. Nadeem S., Naveed M., Ayyub M., Khan M.Y., Ahmad M., Zahir Z.A. Potential, limitations and future prospects of *Pseudomonas* spp. for sustainable agriculture and environment: A Review // Soil Environ. 2016. V. 35. № 2. P. 106–145.  
<https://www.researchgate.net/publication/309202604>
20. Nadeem N., Asif R., Ayyub S., Salman S., Shafique F., Ali Q., Malik A. Role of rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals. Review Article // Biol. Clin. Sci. Res. J. 2020. V. 2020. P. e035.  
<https://doi.org/10.47264/bcsrj0101035>
21. Ojha S., Jaiswal S., Thakur P., Mishra S.K. Bioremediation techniques for heavy metal and metalloid removal from polluted lands: a review // Int. J. Sci. Technol. 2023. V. 20. P. 10591–10612.  
<https://doi.org/10.1007/s13762-022-04502-3>
22. Pattnaik S., Mohapatra B., Gupta A. Plant-growth promoting microbe mediated uptake of essential nutrients (Fe, P, K) for crop stress management: microbe—soil—plant continuum. Review article // Front. Agron. 2021. V. 3.  
<https://doi.org/10.3389/fagro.2021.689972>
23. Rasafi T.El., Haouas A., Tallou A. et al. Recent progress on emerging technologies for trace elements-contaminated soil remediation. Review // Chemosphere. 2023. V. 341. P. 140121.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140121>



24. Ren X.M., Guo S.J., Tian W. et al. Effects of plant growth-promoting bacteria (PGPB) inoculation on the growth, antioxidant activity, Cu uptake, and bacterial community structure of rape (*Brassica napus* L.) grown in Cu-contaminated agricultural soil // Front. Microbiol. 2019. V. 10. P. 1455.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01455>
25. Saha L., Tiwari J., Bauddh K., Ma Y. Recent developments in microbe-plant-based bioremediation for tackling heavy metal-polluted soils. Review article // Front. Microbiol. 2021. V. 12. 731723.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.731723>
26. Saxena G., Purchase D., Mulla S.I., Saratale G.D., Bharagava R.N. Phytoremediation of heavy metal-contaminated sites: eco-environmental concerns, fields studies, sustainability issues and future prospects // Rev. Environ. Contamin. Toxicol. 2020. V. 249 P. 71–131.  
[https://doi.org/10.1007/398\\_2019\\_24](https://doi.org/10.1007/398_2019_24)
27. Seraj F., Rahman T. Heavy metals, metalloids, their toxic effect and living systems // Am. J. Plant Sci. 2018. V. 9. № 13. P. 2626–2643.  
<https://doi.org/10.4236/ajps.2018.913191>
28. Singh S.N., Goyal S.K., Singh S.R. Bioremediation of heavy metals polluted soils and their effect on plants // Agriways. 2015. V. 3. № 1. P. 19–24.  
[https://www.researchgate.net/publication/353446009\\_Bioremediation\\_of\\_Heavy\\_Metals\\_Polluted\\_Soil](https://www.researchgate.net/publication/353446009_Bioremediation_of_Heavy_Metals_Polluted_Soil) (обращение 16 апреля 2024).
29. Singh P.K. Effect of soil polluted by heavy metals: Effect on plants, bioremediation and adoptive evolution in plants // Plant Res. Soil Pollut. 2020. P. 89–102.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-15-4964-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4964-9_5)
30. Srivastava R., Singh A. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture // Intern. J. Agr. Sci. Res. 2017. V. 7. № 4. P. 505–510.  
<https://doi.org/10.24247/ijasraug201765>
31. Ullah, A., Hung S., Munis M.F.H., Fahad S., Yang X. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: A review // Environ. Exp. Bot. 2015. V. 117. P. 28–40.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.001>

## Soil-Agrochemical Aspects of Remediation of Copper-Contaminated Soil in Applying Growth-Promoting Rhizosphere Bacteria

V. P. Shabayev<sup>a, \*</sup>, and V. E. Ostroumov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia*

<sup>\*</sup>*e-mail: vpsh@rambler.ru*

Impact of introducing growth-promoting rhizosphere bacteria of genus *Pseudomonas* on growth and chemical composition of spring wheat plants in artificial contamination with copper nitrate in increased quantity, at rate of 300 mg/kg of humus horizon of agro-gray soil (Luvic Retic Greyzemic Phaeozems (Loamic)) in pot experiment was studied. Applying bacteria *P. fluorescens* SV20, *P. fluorescens* SV21 and *P. putida* SV23 reduced significantly copper toxicity on plants in first half of growing season. Increasing plant resistance to application of copper nitrate in using bacteria was due to increase in their biophilic elements N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn and Zn uptake from contaminated soil without significant changes in concentrations of most elements in plants and in soil medium reaction. Positive effect of bacteria was also associated with increase in copper uptake by roots – increase in barrier ability of root system towards metal. Bacteria increased presence of copper in soil mainly in specifically sorbed and associated with ferruginous minerals fractions, and, to a lesser extent, in fraction associated with organic matter, and decrease metal in residual fraction firmly associated with clay minerals in extraction by sequential selective extractions method. Bacteria enhanced phytoextraction – purification of contaminated soil, increasing copper uptake by plant shoots. Application of bacteria can be recommended in developing strategies for remediation of copper-contaminated soils based on environmentally friendly technologies.

**Keywords:** *Pseudomonas*, spring wheat, agro-gray soil, copper nitrate, copper in plants and in soil fractions, chemical composition of plants