

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

© 2023 г. В. П. Шабает*, *, В. Е. Остроумов^а

^аИнститут физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
ул. Институтская, 2, Московская область, Пушкино, 142290 Россия

*e-mail: vpsh@rambler.ru

Поступила в редакцию 13.07.2022 г.

После доработки 30.08.2022 г.

Принята к публикации 07.09.2022 г.

В вегетационных опытах изучено влияние внесения стимулирующих рост растений ризосферных бактерий на урожай и химический состав яровой пшеницы при выращивании на искусственно загрязненном водорастворимым соединением никеля гумусовом горизонте агросерой почвы (Luvic Retic Greyzemic Phaeozems (Loamic)). Применение бактерий *Pseudomonas fluorescens* 20, *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23 повысило устойчивость растений к повышенным концентрациям никеля и увеличило урожай, значительно уменьшая или полностью устраняя фитотоксичность тяжелого металла. Устойчивость растений, подвергнутых никелевому стрессу, при применении бактерий обусловлена: а) стимуляцией роста корней и увеличением накопления никеля в корневой системе, б) улучшением минерального питания растений — увеличением выноса ими биофильных элементов из загрязненной почвы вследствие увеличения урожая, в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в растениях, в том числе в зерне. Применение бактерий увеличило вынос никеля надземными органами растений из почвы, тем самым усилило фитоэкстракцию — очистку от тяжелого металла и, следовательно, ремедиацию почвы. Установлено распределение никеля в почве во фракциях, выделенных методом последовательных селективных экстракций. В первой половине вегетационного периода внесение бактерий увеличило содержание никеля в почве, главным образом, в обменной и специфически сорбированной фракциях и, в меньшей мере, во фракциях, связанных с органическим веществом и с железистыми минералами, и уменьшило содержание металла в остаточной фракции. Увеличение накопления никеля в растениях при внесении бактерий соответствовало повышенному содержанию тяжелого металла в почве в составе соединений, связанных с обменной и специфически связанной фракциями. При полной спелости растений не обнаружено значимых изменений в фракционном составе никеля в почве. Применение бактерий может быть рекомендовано при разработке стратегий ремедиации загрязненных никелем почв на основе экологически безопасных технологий.

Ключевые слова: *Pseudomonas*, *Triticum aestivum* L., агросерая почва, Luvic Retic Greyzemic Phaeozems (Loamic), химический состав растений, фракции Ni в почве

DOI: 10.31857/S0032180X22600925, **EDN:** BJOXNM

ВВЕДЕНИЕ

Избыток никеля (Ni) в растительной продукции представляет серьезную опасность для человека и животных. Основными источниками загрязнения почв опасными тяжелыми металлами (ТМ), являются: аэральные выпадения из стационарных источников и средств передвижения, гидрогенное загрязнение от поступления промышленных сточных вод, осадки сточных вод, органические и минеральные удобрения, средства защиты растений и различные отвалы [2]. При повышенном содержании ТМ в почве происходит угнетение роста и развития растений и особенно восприимчивы к

ТМ почвенные микроорганизмы [2]. Последние годы все шире исследуются стимулирующие рост растений ризосферные бактерии (plant growth promoting rhizobacteria — PGPR), в том числе на загрязненных ТМ почвах [1, 6, 19, 20, 26, 29]. Рассматривается применение PGPR в сельском хозяйстве XXI в. и дорожная карта коммерциализации технологий, основанной на использовании этих бактерий [13]. В условиях современного загрязнения биосферы токсичными ТМ особую актуальность приобретает разработка высокоэффективных и экономически выгодных технологий ремедиации почв на основе применения

биологических средств [20]. Ремедиация почв наряду с восстановлением изначальных свойств почв при ликвидации последствий загрязнения или ослаблением воздействия на окружающую среду включает уменьшение стресса или токсичности от ТМ [20, 26, 28, 34]. Среди PGPR особое внимание привлекают представители рода *Pseudomonas* благодаря широкой распространенности в окружающей среде и присущей им совокупности полезных для роста растений свойств [16, 30]. Разрабатываются биопрепараты на основе PGPR, в том числе состоящие из бактерий рода *Pseudomonas*, для увеличения урожайности сельскохозяйственных культур [23]. Получены биопрепараты на основе бактерии *P. putida* BS9 и ее биосурфактант (биосурфактанты — поверхностно-активные биомолекулы, продуцируемые бактериями), которые могут быть использованы для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур и позволяющие минимизировать применение агрохимикатов [28]. Применение PGPR рода *Pseudomonas* значительно уменьшало фитотоксичность Ni и стимулировало рост растений при загрязнении ТМ [1, 17, 18, 24, 25, 31]. В настоящее время, несмотря на имеющиеся данные, свидетельствующие о значительной стимуляции роста растений под влиянием PGPR, исследований, направленных на изучение растительных и почвенных механизмов ремедиации загрязненных ТМ почв, в том числе Ni, недостаточно.

Цель работы — изучение влияния PGPR рода *Pseudomonas* на урожай и химический состав яровой пшеницы, включая поступление в растения Ni, и определение форм нахождения Ni в почве как возможной основы для разработки экологически безопасной технологии ремедиации загрязненной Ni агросерой почвы.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили при выращивании яровой пшеницы *Triticum aestivum* L., сорта Злата (Московский НИИСХ “Немчиновка”) в вегетационных опытах при искусственном загрязнении агросерой почвы (Luvic Retic Greyzemic Phaeozems (Loamic)) юга Московской области водорастворимым соединением Ni. Для опытов использовали пахотную, среднесуглинистую агросерую почву (слой 0–20 см), на которой в предшествующий год выращивали ячмень. Испытывали влияние 20-го штамма бактерии *P. fluorescens*, 21-го штамма бактерии *P. fluorescens* и 23-го штамма бактерии *P. putida* на рост и химический состав растений, включая содержание Ni, и фракционный состав Ni в почве. Бактерии стимулировали рост и повышали урожай зерновых, бобовых, корнеплодных культур и ярового рапса [9]. В контрольном варианте растения выращивали

без внесения Ni и бактерий, во втором варианте — с внесением Ni без бактерий, в остальных вариантах на фоне загрязнения почвы Ni — с внесением каждой из вышеупомянутых бактерий. Подробная схема опытов представлена в табл. 1. При посеве стерилизованные, пророщенные семена раскладывали на почве и инокулировали водными суспензиями чистых культур бактерий в водопроводной воде из расчета 10^8 клеток на растение и засыпали слоем 3 см почвы. В вариантах без инокуляции бактериями применяли аналогичным образом адекватное количество автоклавированных бактериальных суспензий. В почву за 10 дней до посева семян вносили раствор $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, на фоне внесения солей NPK из расчета по 100 мг каждого элемента на 1 кг почвы в виде NH_4NO_3 , K_2HPO_4 и K_2SO_4 , все соли были квалификации “х. ч.” (Реахим, Россия). Влажность почвы в сосудах в течение вегетационного периода поддерживали поливами на уровне не ниже 60% полной полевой влагоемкости (21% мас. %).

Опыт 1. В сосудах диаметром 10 см и высотой 11 см, содержащих 800 г почвы, выращивали по 10 растений до фазы трубкования в течение 26 дней при внесении из расчета 300 мг Ni/кг почвы, что в 7.5 раз превышало ориентировочно допустимую концентрацию для аналогичных почв. Почва имела следующие показатели: pH_{KCl} 6.34, $\text{C}_{\text{орг}}$ — 1.7%, $\text{N}_{\text{вал}}$ — 136 мг, Ca и Mg (1 М KCl) — 13.4 и 1.7 смоль(экв)/кг, $\text{N}-\text{NH}_{\text{обм}}$ и $\text{N}-\text{NO}_3$ (0.1 н. Na_2SO_4) — 0.6 и 0.4 мг, подвижные P_2O_5 и K_2O (0.2 М HCl) — 14.7 и 23.5 мг/100 г почвы соответственно. Почва характеризовалась следующим гранулометрическим составом фракций, %: 1–0.25 мм — 2.6, 0.25–0.05 мм — 14.3, 0.05–0.01 мм — 45.6, 0.01–0.005 мм — 9.1, 0.005–0.001 мм — 12.0, <0.001 мм — 16.4. Плотность твердой фазы почвы — 2.63 г/см³. Повторность опыта пятикратная.

Опыт 2. В сосудах, содержащих 5 кг почвы, выращивали по 13 растений до полного созревания в течение 118 дней при внесении из расчета 200 мг Ni/кг почвы, что в 5 раз превышало ориентировочно допустимую концентрацию для аналогичных почв. Почва имела следующие показатели: pH_{KCl} 5.62, $\text{C}_{\text{орг}}$ — 1.3%, $\text{N}_{\text{вал}}$ — 142 мг, Ca и Mg (1 М KCl) — 12.7 и 1.7 смоль(экв)/кг, $\text{N}-\text{NH}_{\text{обм}}$ и $\text{N}-\text{NO}_3$ (0.1 н. Na_2SO_4) — 0.5 и 0.6 мг, подвижные P_2O_5 и K_2O (0.2 М HCl) — 20.2 и 12.9 мг/100 г почвы соответственно. Почва характеризовалась следующим гранулометрическим составом фракций, %: 1–0.25 мм — 0.6, 0.25–0.05 мм — 4.6, 0.05–0.01 мм — 54.4, 0.01–0.005 мм — 12.1, 0.005–0.001 мм — 12.1, <0.001 мм — 16.2. Плотность твердой фазы почвы — 2.60 г/см³. Повторность опыта четырехкратная.

Вегетативную массу (листья и стебли), зерно, солому (вместе с половой) и корни после срезания растений высушивали при 70°C до постоян-

Таблица 1. Масса растений яровой пшеницы

Вариант	Масса растений (сухое вещество), г/сосуд						
	в фазе выхода в трубку (опыт 1)			при полной спелости (опыт 2)			
	вегетативная масса	корни	сумма	зерно	солома	корни	сумма
Без Ni и внесения бактерий — контроль	2.44	1.08	3.52	23.4	30.4	3.6	57.4
Ni без внесения бактерий	1.20	0.43	1.63	20.0	24.4	2.1	46.5
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	2.00	0.73	2.73	24.4	32.2	3.1	59.7
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	1.73	0.80	2.53	24.2	29.0	3.3	56.5
Ni + <i>P. putida</i> 23	1.76	0.50	2.26	23.8	29.3	3.7	56.8
HCP ₀₅	0.37	0.12	0.60	3.3	4.9	1.1	9.8

ной массы и взвешивали. Корни отмывали от почвы водопроводной, затем дистиллированной водой. После сжигания растительного материала (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) определяли содержание валового азота в растворах феноловым методом. Растительный материал (0.5 г) после сжигания в смеси концентрированных кислот HNO_3 : $HClO_4$ (2 : 1) анализировали на содержание Ni и других зольных элементов в растворах. После выращивания растений определяли pH почвенной суспензии в вытяжке 1 M KCl (почва : раствор 1 : 2.5) [7] — на pH-метре pH 325-B (WTW, Германия). После среза растений в фазе трубкования в опыте 1 и при полной спелости растений в опыте 2 фракционировали соединения Ni в почве методом последовательных селективных экстракций [7]. Выделяли следующие фракции Ni: водорастворимую, обменную (экстрагент $Ca(NO_3)_2$), специфически сорбированную, связанную с карбонатами (CH_3COOH), связанную с органическим веществом ($K_4P_2O_7$) и связанную с железистыми минералами (реактив Тамма). Содержание Ni в остаточной фракции, прочно связанной с глинистыми минералами, определяли по разности между внесенным в почву количеством ТМ и его суммой во фракциях, выделенных указанными выше экстрагентами. Содержание Ni и других зольных элементов (кроме калия) в растворах определяли методом эмиссионно-оптической спектроскопии индуктивно-связанной плазмы на спектрометре ICP OES Optima 5900 DV (Perkin Elmer, США). Калий определяли методом пламенной фотометрии на пламенном фотометре BWB XP 2011 (BWB, Великобритания). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета MS Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При загрязнении почвы Ni установлено ингибирование роста яровой пшеницы в фазе трубкования в опыте 1. Это выражалось в уменьшении более, чем вдвое, массы вегетативных органов (суммы листьев и стеблей) и целых растений относительно контроля — варианта без загрязнения ТМ и бактериальных инокуляций. В условиях Ni стресса масса корней уменьшилась более, чем вдвое. Применение всех бактерий уменьшило токсическое действие ТМ на растения и стимулировало их рост. При внесении бактерий *P. fluorescens* 20 вегетативная масса растений, подвергнутых Ni стрессу, была в 1.5 раза больше по сравнению с вариантом с загрязнением ТМ без бактериальных инокуляций. При этом растения, инокулированные *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23, имели на 44–47% большую вегетативную массу. Внесение бактерий в условиях Ni стресса также способствовало лучшему росту корневой системы загрязненных ТМ растений. Масса корней, подвергнутых загрязнению ТМ, при инокуляции *P. fluorescens* 21 увеличилась на 86%, а при инокуляции *P. fluorescens* 20 и *P. putida* 23 — на 70 и 16% соответственно. При применении наиболее эффективной бактерии *P. fluorescens* 20 вегетативная масса растений достигала 82%, остальных двух бактерий — 71–72% от контрольного варианта. Корневая масса растений, инокулированных *P. fluorescens* 20 и *P. fluorescens* 21, составила соответственно 68 и 74%, при инокуляции *P. putida* 23 — 46% относительно контроля.

При загрязнении почвы Ni без внесения бактерий в опыте 2 также установлено токсическое действие ТМ на растения яровой пшеницы при полной спелости, которое выражалось в уменьшении надземной массы растений — зерна на 14%, соломы — на 20% по сравнению с контролем. Масса корней в условиях Ni-стресса уменьши-

Таблица 2. Содержание Ni в растениях яровой пшеницы

Вариант	Содержание Ni в растениях, мг/кг сухой массы				
	в фазе выхода в трубку (опыт 1)		при полной спелости (опыт 2)		
	вегетативная масса	корни	зерно	солома	корни
Без Ni и внесения бактерий — контроль	8	0.02	2	2	5
Ni без внесения бактерий	254	0.12	12	6	142
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	265	0.13	14	7	166
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	325	0.14	13	7	171
Ni + <i>P. putida</i> 23	395	0.14	13	7	199

Примечание. Содержание Ni в корнях в опыте 1 дано в процентах. Ошибки определения содержания Ni по вариантам опыта не превышали 15%.

лась в 1.7 раза. Повышенные концентрации Ni оказывали негативное влияние на прорастание семян, рост корней и вегетативной органов растений, ингибируя физиологические процессы в растениях, в том числе фотосинтез [5, 12, 21]. Внесение всех бактерий в загрязненных условиях оказывало примерно одинаковое действие и увеличило массу зерна на 19–22%, соломы — на 19–32%. Бактерии при загрязнении Ni также способствовали лучшему росту корневой системы. Масса корней, загрязненных ТМ растений, при инокуляции бактериями увеличилась в 1.5–1.8 раза. На фоне достоверного уменьшения урожая неинокулированных растений под влиянием Ni по сравнению с контролем — вариантом без внесения ТМ и бактериальных инокуляций, применение всех бактерий в загрязненных условиях обеспечило получение такого же урожая, в том числе зерна, как и на контроле. Массы корней и соломы растений, подвергнутых Ni стрессу и инокулированных бактериями, были сопоставимы с таковыми в контрольном варианте. Проведенные исследования показали, что применение ростстимулирующих бактерий *P. fluorescens* 20, *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23 значительно уменьшило токсическое действие Ni на растения яровой пшеницы и увеличило урожай в фазе трубкования и полной спелости при загрязнении почвы ТМ. При этом установлено увеличение как надземной биомассы, так и корней в загрязненных условиях. Инокулянты, состоящие из бактерий рода *Pseudomonas*, обеспечивали увеличение массы растений нута в вегетационном опыте при концентрации 2 мМ Ni [33]. Применение *Pseudomonas* sp. A3R3 значительно увеличило биомассу горчицы сарептской (*Brassica juncea*) при выращивании на загрязненной Ni почве [25]. Инокуляция ростстимулирующими псевдомонадами, в том числе обладающими способностью мобилизовать Ni в почве, значительно увеличила массу надземной части и корней двух видов растений рода *Brassica* [24]. При загрязнении Ni из расчета 200 мг/кг агросерой почвы и внесении бактерий в опыте 2 не установлено ток-

сического действия ТМ на растения яровой пшеницы в фазе полной спелости. Ранее в результате проведения вегетационных опытов при загрязнении агросерой почвы из расчета 200 мг Pb и 10 мг Cd/кг почвы установлено, что внесение бактерий рода *Pseudomonas* полностью устраняло токсическое действие ТМ на растения ячменя и обеспечивало получение такой же биомассы растений, в том числе зерна, как и выращенных без загрязнения ТМ [10, 11]. Инокуляция бактериями при загрязнении Ni из расчета 300 мг/кг почвы в опыте 1, несмотря на значительное уменьшение негативного эффекта ТМ, не устраняла его полностью в отличие от опыта 2, в котором применяли 200 мг Ni/кг. Вероятно, это связано с использованием большей дозы Ni в опыте 1.

Внесение бактерий *P. fluorescens* 20 практически не оказало влияния на содержание Ni в вегетативной массе в фазе трубкования в опыте 1, тогда как в варианте с *P. fluorescens* 21 этот показатель увеличился на 28%, в варианте с *P. putida* 23 — до 49% (табл. 2). Содержание Ni в корневой системе растений под влиянием инокуляции бактерией *P. fluorescens* 20 также существенно не изменилось, а при внесении *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23 — увеличилось на 16%. При этом в корнях содержалось в 4–5 раз больше Ni, чем в вегетативной массе. При применении бактерий не обнаружено значимых изменений содержания Ni в зерне и соломе в опыте 2. Значения этого показателя в корневой системе при полной спелости при инокуляции бактериями, напротив, были в 1.2–1.4 раза больше, чем у неинокулированных растений. В корневой системе вне зависимости от применения бактерий содержалось больше, чем на порядок Ni, чем в зерне и соломе.

Загрязнение почвы Ni значительно увеличило количество ТМ в растениях (в пересчете на их массу) или вынос Ni растениями из почвы (табл. 3). Применение бактерий увеличило вынос Ni (мкг/сосуд) вегетативной массой в фазе трубкования в 1.7–2.3 раза из загрязненной почвы в

Таблица 3. Вынос Ni растениями яровой пшеницы

Вариант	Вынос Ni растениями, мкг/сосуд						
	в фазе выхода в трубку (опыт 1)			при полной спелости (опыт 2)			
	вегетативная масса	корни	сумма	зерно	солома	корни	сумма
Без Ni и внесения бактерий – контроль	следы	216	216	47	61	18	126
Ni без внесения бактерий	305	516	821	240	146	298	684
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	530	949	1479	342	225	515	1082
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	562	700	1362	315	203	564	1082
Ni + <i>P. putida</i> 23	695	798	1493	309	205	736	1250
HCP ₀₅	205	121	164	63	45	100	185

опыте 1, в наибольшей степени – при инокуляции *P. putida* 23. При применении бактерии *P. fluorescens* 20 этот показатель увеличился вследствие увеличения массы растений, без существенных изменений содержания Ni в вегетативных органах и корневой системе. В отличие от *P. fluorescens* 20 под влиянием инокуляции бактерией *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23 аккумуляция Ni в вегетативных органах увеличилась как вследствие увеличения массы растений, так и роста содержания в них Ni. Количество ТМ в корнях при внесении бактерий увеличилось в 1.4–1.8 раза и было в несколько раз больше по сравнению с вегетативными органами. Применение бактерий в опыте 2 увеличило вынос Ni из загрязненной почвы зерном, соломой и суммарной надземной биомассой в 1.3–1.5 раза. При этом накопление Ni в корнях при внесении бактерий увеличилось в 1.7–2.5 раза и было в среднем в 2 раза больше, чем в зерне и соломе. Под влиянием бактерии *P. putida* 23 в несколько большей степени увеличился вынос ТМ корнями и суммарным урожаем при полной спелости, как и вегетативной биомассой в фазе трубкования. Корни являются первым барьером при транспорте в растения ТМ из почвы, в корнях происходит их аккумуляция и детоксикация [8]. Проведенные исследования показали, что применение бактерий усилило барьер по отношению к поступлению Ni в растения на границе надземные органы – корневая системы. Количество Ni в зерне, соломе и корнях в большей степени увеличилось вследствие увеличения массы инокулированных растений, нежели чем изменения содержания в них ТМ. Другими исследователями также получены неоднозначные результаты по влиянию бактерий рода *Pseudomonas* на поступление Ni в растения. Так, внесение стимулирующей рост растений бактерии *Pseudomonas* sp. A3R3 увеличило биомассу и аккумуляцию Ni горчицей сарептской (*Brassica juncea*), не влияя на содержание ТМ в растениях на загрязненной почве [25]. Инокуляция индийской горчицы бактерией *Pseudomo-*

nas Ps29C, устойчивой к Ni и стимулирующей рост растений, защищала растения от ТМ, внесенного в различных концентрациях в почву, не влияя при этом на аккумуляцию Ni в побегах и корнях [31]. В наших исследованиях внесение бактерий увеличило вынос Ni из загрязненной почвы вегетативными органами растений в фазе выхода в трубку и надземной биомассой при полной спелости, тем самым, усилило фитоэкстракцию – очистку почву от ТМ. Таким образом, применение испытанных бактерий, наряду с повышением устойчивости растений к токсическому действию Ni, усилило ремедиацию загрязненной Ni почвы. Эффективность фиторемедиации в условиях загрязнения ТМ можно усилить с помощью, стимулирующих рост растений бактерий, которые увеличивают растворимость и биодоступность ТМ вследствие образования низкомолекулярных органических соединений – сидерофоров, органических кислот и других соединений [34].

В табл. 4 представлены данные по содержанию биофильных элементов в растениях яровой пшеницы в фазе выхода в трубку после завершения опыта 1. Внесение бактерий на фоне загрязнения почвы Ni не оказало существенного влияния на содержание изученных макро- и микроэлементов в вегетативных органах в фазе трубкования по сравнению с вариантом без бактериальных инокуляций в загрязненных условиях. Относительно контрольного варианта при загрязнении почвы Ni, как при внесении, так и без внесения бактерий установлены другие закономерности. В вегетативной массе загрязненных ТМ растений вне зависимости от инокуляции бактериями установлено примерно одинаковое увеличение содержания Mg – более, чем в 3 раза, Zn и Cu – до 2 раз, фосфора – до 1.5 раза по сравнению с контролем. Содержание Fe и Mn при этом увеличилось в меньшей степени – до 15 и 36% соответственно. Напротив, в отличие от вышеупомянутых элементов концентрация K и Ca в вегетативных ор-

Таблица 4. Содержание биофильных элементов в растениях яровой пшеницы в фазе выхода в трубку (опыт 1)

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
	%				мг/кг				
	Вегетативная масса								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	3.90	0.40	0.41	0.47	215	159	42	22	12
Ni без внесения бактерий	4.05	0.60	0.36	0.19	685	180	54	45	22
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	4.10	0.59	0.38	0.20	710	179	57	45	23
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	4.30	0.60	0.34	0.22	694	183	45	38	25
Ni + <i>P. putida</i> 23	4.30	0.63	0.31	0.22	684	175	50	38	28
	Корни								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	3.11	0.58	2.12	0.54	663	0.23	277	89	14
Ni без внесения бактерий	3.09	0.69	2.10	1.72	1380	0.39	333	103	14
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	2.61	0.60	2.02	1.68	1380	0.42	420	99	16
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	2.91	0.70	1.78	1.90	1458	0.47	367	121	16
Ni + <i>P. putida</i> 23	2.78	0.73	2.10	1.96	1590	0.47	378	110	17

Примечание. Содержание Fe в корнях дано в процентах. Средние из пяти повторностей опыта. Ошибки определений макро- и микроэлементов по вариантам опыта не превышали соответственно 5 и 15%.

ганах в загрязненных условиях вне зависимости от внесения бактерий уменьшилась соответственно на 7–24% и до 2.1–2.5 раз. В корневой системе, как и в вегетативной массе загрязненных Ni растений вне зависимости от внесения бактерий, установлено значительные до 2 раз и более увеличение содержания Mg по сравнению с контролем. При этом в отличие от надземных органов в условиях загрязнения Ni для Ca по всем вариантам опыта, в том числе без бактерий, в корнях обнаружено увеличение концентрации этого элемента более, чем втрое. Кроме того, в корнях при загрязнении ТМ более существенно, в 1.7–2 раза, чем вегетативных органах увеличилась концентрация Fe по сравнению с контролем. Содержание фосфора, Zn и Cu в корнях загрязненных Ni растений, как и при бактериальных инокуляциях увеличились менее существенно, а Mn — примерно в одинаковой степени, как и в надземной биомассе. Содержание K в корнях, как и в вегетативных органах под влиянием загрязнения Ni изменялось менее значительно. При загрязнении почвы Ni в надземной части растений, как без применения, так и при бактериальных инокуляциях установлено некоторое увеличение содержания азота, при некотором уменьшении его содержания в корнях инокулированных бактериями растений. Увеличение содержания большинства биофильных элементов в вегетативной массе, за исключением азота, Ca и K, и в корнях, за исключением N, K и Cu в фазе трубкования при загрязнении почвы Ni без внесения бактерий, соответствовало значительному уменьшению массы обоих органов растений по сравнению с контролем. Эта закономерность была выражена в растениях в наибольшей степени для Mg, а в корнях для Ca и Fe.

Известно, что уменьшение массы растений сопровождается увеличением в них концентраций питательных элементов, в противоположность “биологическому” разведению — уменьшению этого показателя при увеличении массы растений. Кроме того, увеличение содержания биофильных элементов в растениях, вероятно, связано с ответной протекторной реакцией растений на загрязнение почвы Ni.

В опыте 2 под влиянием внесения бактерий на фоне загрязнения почвы Ni содержание большинства биофильных элементов в зерне, соломе и корнях не изменялось по сравнению с неинокулированным вариантом с загрязнением ТМ, а для отдельных элементов этот показатель в различных органах растений или увеличивался, или уменьшался в виде тенденции (табл. 5). По сравнению с контролем при загрязнении Ni вне зависимости от бактериальных инокуляций содержание элементов в растениях при их полной спелости изменялось в меньшей степени, чем в вегетативной биомассе в фазе трубкования. При этом исключения касались и Ca, содержание которого в корнях инокулированных бактериями растений при загрязнении ТМ значительно уменьшилось.

Без внесения бактерий в опыте 1 в фазе выхода в трубку уменьшение массы растений при загрязнении почвы Ni сопровождалось значительным уменьшением выноса вегетативной массой и целыми растениями из почвы практически всех питательных элементов, за исключением увеличения этого показателя для Mg (табл. 6). При этом накопление Mg в растениях увеличилось за счет увеличения в них содержания этого элемента, несмотря на уменьшение массы вегетативных орга-

Таблица 5. Содержание биофильных элементов в растениях яровой пшеницы при полной спелости (опыт 2)

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
	%					мг/кг			
	Зерно								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	1.88	0.18	0.23	0.08	0.24	124	13	60	4
Ni без внесения бактерий	2.06	0.20	0.30	0.07	0.24	159	18	74	5
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	2.02	0.24	0.30	0.05	0.25	164	21	74	5
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	2.14	0.26	0.30	0.05	0.28	136	24	72	4
Ni + <i>P. putida</i> 23	2.04	0.23	0.34	0.05	0.29	133	25	70	4
	Солома								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	0.36	0.07	2.12	0.94	0.28	161	21	34	6
Ni без внесения бактерий	0.40	0.07	2.20	0.83	0.32	206	27	37	7
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	0.32	0.07	2.24	0.77	0.34	247	32	42	7
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	0.36	0.06	2.26	0.77	0.37	371	41	37	8
Ni + <i>P. putida</i> 23	0.31	0.07	2.20	0.78	0.37	371	38	43	7
	Корни								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	1.14	0.02	0.33	1.25	0.32	1.20	140	98	9
Ni без внесения бактерий	1.33	0.04	0.43	0.58	0.40	1.33	170	107	9
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	1.20	0.05	0.38	0.45	0.48	1.35	177	98	10
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	1.20	0.05	0.37	0.53	0.42	1.41	171	115	11
Ni + <i>P. putida</i> 23	1.20	0.06	0.39	0.56	0.42	1.36	162	125	11

Примечание. Содержание Fe в корнях дано в процентах. Средние из четырех повторностей опыта. Ошибки определений макро- и микроэлементов по вариантам опыта не превышали соответственно 5 и 15%.

Таблица 6. Вынос биофильных элементов растениями яровой пшеницы в фазе выхода в трубку (опыт 1)

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	
	мг/сосуд				мкг/сосуд					
Вегетативная масса	Без Ni и внесения бактерий – контроль	95	10	10	12	549	388	103	54	29
	Ni без внесения бактерий	49	7	4	2	822	216	65	54	26
	Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	82	12	8	4	1420	358	114	90	46
	Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	75	10	6	4	1201	317	78	62	43
	Ni + <i>P. putida</i> 23	77	11	6	4	1204	308	88	64	49
	HCP ₀₅	8	2	2	1	132	66	32	11	3
	Целое растение	Без Ni и внесения бактерий – контроль	129	16	33	18	1265	2885	402	150
Ni без внесения бактерий	62	9	16	9	1415	1906	208	98	43	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	101	16	23	16	2427	3993	382	162	78	
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	98	16	18	14	1930	2641	262	123	71	
Ni + <i>P. putida</i> 23	91	15	18	11	2110	3011	304	127	77	
HCP ₀₅	12	4	2	2	283	381	45	20	18	

Таблица 7. Вынос биофильных элементов растениями яровой пшеницы при полной спелости (опыт 2)

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
	мг/сосуд					мкг/сосуд			
	Зерно								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	440	42	54	19	56	2902	304	1404	94
Ni без внесения бактерий	412	40	60	14	48	3180	360	1480	100
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	492	59	73	12	61	4002	512	1806	122
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	518	63	73	12	68	3291	581	1742	97
Ni + <i>P. putida</i> 23	486	55	81	12	69	3165	595	1666	95
HCP ₀₅	70	11	11	2	10	827	108	175	25
	Целое растение								
Без Ni и внесения бактерий – контроль	590	64	711	350	153	7849	1446	2791	308
Ni без внесения бактерий	538	58	606	229	134	8234	1376	2608	290
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	632	83	806	274	186	12007	2091	3462	378
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	659	81	740	253	189	14097	2334	3195	365
Ni + <i>P. putida</i> 23	621	77	740	262	190	14085	2327	3389	341
HCP ₀₅	81	12	109	22	28	2470	482	523	44

нов и корней. Увеличение аккумуляции Mg в надземных органах пшеницы при загрязнении почвы Ni отмечалось и в других исследованиях [35]. Внесение бактерий в загрязненных условиях в опыте 1 значительно увеличило вынос (мг/сосуд и мкг/сосуд) всех исследованных макро- и микроэлементов вегетативными органами и суммарной биомассой в фазе трубкования по сравнению с вариантом с загрязнением Ni без бактериальных инокуляций. Увеличение выноса биофильных элементов инокулированными бактериями растениями из загрязненной почвы при их выращивании до фазы выхода в трубку происходило в основном вследствие стимуляции роста растений, в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в растениях.

В табл. 7 представлены данные по выносу из почвы биофильных элементов зерном и суммарной биомассой при полной спелости после завершения опыта 2. Применение бактерий на фоне загрязнения Ni увеличило количество всех исследованных элементов в суммарной биомассе. При этом наибольшее увеличение, в 1.4–1.7 раза, было для Mg, Fe и Mn. Аналогичная закономерность установлена для выноса большинства элементов зерном, за исключением того, что этот показатель в зерне существенно не изменялся для Ca, Fe и Cu в некоторых вариантах опыта. Внесение бактерий в целом примерно в одинаковой степени увеличило вынос биофильных элементов растениями при полной спелости из загрязненной почвы. При загрязнении почвы Ni без применения бактерий вынос почти всех элементов суммарной

биомассой и зерном по сравнению контролем уменьшился или изменялся в виде тенденции, за исключением достоверного уменьшения этого показателя для Ca в целых растениях и некоторого увеличения количества Mn в зерне. Вынос биофильных элементов инокулированными бактериями растениями из загрязненной почвы при их выращивании до полной спелости, так же как до фазы выхода в трубку, происходило из-за увеличения урожая без существенных изменений содержания большинства элементов в растениях.

Таким образом, внесение бактерий увеличило вынос всех исследованных биофильных элементов урожаем из загрязненной почвы Ni, тем самым, улучшило минеральное питание растений. Увеличение в фазе трубкования и при полной спелости массы растений, подвергнутых никелевому стрессу, при внесении ризобактерий, было обусловлено улучшением минерального питания растений вследствие увеличения выноса ими биофильных элементов, в том числе Mg, который входит в состав хлорофилла и непосредственно участвует в процессе фотосинтеза. PGPR обладают стимулирующими свойствами, включая солюбилизацию фосфора, азотфиксацию, образование фитогормонов и других соединений, что увеличивает биомассу растений и поглощение ими ТМ, и в свою очередь способствует фиторемедиации [34]. Микробы, ассоциированные с растениями, могут стимулировать их рост, увеличивая вынос питательных элементов биомассой, оказывают положительное влияние на минеральное питание растений [15, 30] и, как показывают ре-

Таблица 8. Реакция почвенной среды после выращивания растений

Вариант	pH _{KCl}
Опыт 1, трубкование	
Без Ni и внесения бактерий — контроль	6.50 ± 0.07
Ni без внесения бактерий	6.42 ± 0.11
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	6.32 ± 0.08
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	6.30 ± 0.10
Ni + <i>P. putida</i> 23	6.31 ± 0.09
Опыт 2, полная спелость	
Без Ni и внесения бактерий — контроль	6.20 ± 0.01
Ni без внесения бактерий	6.26 ± 0.04
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	6.25 ± 0.04
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	6.26 ± 0.04
Ni + <i>P. putida</i> 23	6.29 ± 0.03

Примечание. Средние из 4–5 повторностей опытов ± отклонение от средней.

зультаты, при загрязнении почвы Ni. Увеличение выноса элементов минерального питания яровой пшеницей в фазе трубкования и при полной спелости при инокуляции бактериями происходило в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в вегетативных органах и в зерне. Внесение бактерий увеличило аккумуляцию питательных элементов растениями на загрязненной Ni почве вследствие стимуляции роста и увеличения массы растений.

В обоих опытах в вариантах с инокуляцией бактериями после срезания растений в фазе трубкования и при полной спелости при загрязнении Ni не установлено значимых изменений реакции почвенной среды по сравнению с вариантом с загрязнением почвы без внесения бактерий (табл. 8). Некоторое уменьшение величины pH_{KCl} (на 0.18–0.20 ед.) при применении бактерий в загрязненных условиях отмечено в фазе трубкования в опыте 1 только относительно контроля. Загрязнение почвы Ni без бактериальных инокуляций также не оказывало значимого влияния на данный показатель в этом опыте. Следовательно, увеличение аккумуляции Ni в растениях под влиянием бактерий происходило без существенных изменений реакции почвенной среды и, вероятно, было обусловлено продуцируемыми бактериями органическими экзометаболитами — сидерофорами, свойственным флуоресцирующим видам *Pseudomonas* [16, 34]. Ризосферные бактерии увеличивали поступление Ni в растения, увеличивая его доступность в почве, вследствие образования сидерофоров [32, 34]. Бактериальные сидерофоры способны влиять на подвижность и биодоступность металлов в результате процессов подкисления, комплексообразования, осаждения и восстановления [27]. В зависимости от состава и концентрации продуцируемых сидерофоров ризосферными

микроорганизмами, а также свойств металла, возможно как увеличение, так и уменьшение его подвижности. Установлено, что продуцируемый бактериями *Pseudomonas* сидерофор — тиокарбоновая кислота образует растворимые комплексы с Ni, но осаждает токсичные металлы и металлоиды, такие как Cd, Pb, As и другие из раствора [36].

Фракционный состав соединений Ni в почве при определении методом последовательных селективных экстракций в фазе трубкования примерно через месяц после роста растений в опыте 1 при загрязнении ТМ представлен в табл. 9. Анализ распределения по фракциям показал, что Ni был обнаружен во всех выделенных фракциях. В модельном эксперименте при внесении NiNO₃ в дерново-подзолистую почву и чернозем Ni был представлен во всех фракциях, выделенных указанным выше методом, что объясняется высоким сродством данного элемента ко всем основным почвенным компонентам вне зависимости от типа почв [4]. В фазе трубкования в опыте 1 вне зависимости от применения бактерий в водорастворимой фракции содержалось всего ≈3% от внесенного количества Ni. Основное количество Ni в почве было сосредоточено в остаточной фракции, связанной с глинистыми минералами, составляя по вариантам 44–57% от внесенного количества. Фракционный состав Ni в почвах отличался значительным преобладанием остаточной фракции над подвижными фракциями [3, 4]. Остаточный Ni был преобладающей фракцией в аллювиальных почвах и достигал 64% от валового содержания ТМ [14].

Внесение бактерий оказывало существенное влияние на распределение Ni в почве, кроме водорастворимой фракции. Под влиянием бактерий примерно через месяц роста растений было

Таблица 9. Фракционный состав соединений Ni в почве в фазе выхода в трубку и при полной спелости растений яровой пшеницы

Вариант	Фракция Ni					
	водорастворимая	обменная	специфически сорбированная	связанная с органическим веществом	связанная с железистыми минералами	остаточная (связанная с глинистыми минералами)
Опыт 1, трубкование						
Ni без внесения бактерий	$\frac{9}{3.0}$	$\frac{32}{10.7}$	$\frac{25}{8.3}$	$\frac{25}{8.3}$	$\frac{38}{12.7}$	$\frac{171}{57.0}$
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	$\frac{9}{3.0}$	$\frac{56}{18.7}$	$\frac{36}{12.0}$	$\frac{28}{9.3}$	$\frac{40}{13.3}$	$\frac{131}{43.7}$
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	$\frac{10}{3.3}$	$\frac{71}{23.7}$	$\frac{40}{13.3}$	$\frac{32}{10.7}$	$\frac{49}{16.3}$	$\frac{98}{32.7}$
Ni + <i>P. putida</i> 23	$\frac{11}{3.7}$	$\frac{50}{16.7}$	$\frac{29}{9.7}$	$\frac{31}{10.3}$	$\frac{41}{13.7}$	$\frac{138}{46.0}$
Опыт 2, полная спелость						
Ni без внесения бактерий	$\frac{3}{1.5}$	$\frac{13}{6.5}$	$\frac{38}{19.0}$	$\frac{35}{17.5}$	$\frac{30}{15.0}$	$\frac{81}{40.5}$
Ni + <i>P. fluorescens</i> 20	$\frac{3}{1.5}$	$\frac{16}{8.0}$	$\frac{40}{20.0}$	$\frac{39}{19.5}$	$\frac{32}{16.0}$	$\frac{70}{35.0}$
Ni + <i>P. fluorescens</i> 21	$\frac{3}{1.5}$	$\frac{12}{6.0}$	$\frac{35}{17.5}$	$\frac{34}{17.0}$	$\frac{29}{14.5}$	$\frac{87}{43.5}$
Ni + <i>P. putida</i> 23	$\frac{3}{1.5}$	$\frac{11}{5.5}$	$\frac{36}{18.0}$	$\frac{36}{18.0}$	$\frac{27}{13.5}$	$\frac{87}{43.5}$

Примечания. Над чертой — мг/кг почвы, под чертой — % от внесенного количества. Ошибки определений содержания Ni не превышали 15%.

обнаружено максимальное, в 1.6–2.2 и 1.2–1.6 раза, увеличение содержания ТМ соответственно в обменной фракции и в специфически сорбированной или связанной с карбонатами фракции по сравнению с контролем. При применении бактерий доля Ni в обменной фракции увеличилась с 11 до 17–24%, в специфически сорбированной — с 8 до 13% от внесенной дозы ТМ относительно контроля. Эта закономерность была выражена в наибольшей степени при внесении *P. fluorescens* 21. Под влиянием этой бактерии также больше всего, в 1.3 раза, увеличилось содержание Ni во фракциях, связанной с органическим веществом и с железистыми минералами. В вариантах с *P. fluorescens* 20 и *P. putida* 23 эти показатели не изменились или изменились незначительно. При внесении всех бактерий доля Ni во фракциях, связанных с органическим веществом и железистыми минералами, увеличилась менее существенно, соответственно от 8 до 11% и от 13 до 16% от внесенного количества. Доля ТМ в остаточной фракции уменьшилась от 57 на контроле до 33–46% при применении бактерий. При внесении бактерии *P. fluorescens* 21 обнаружено минимальное содержание Ni в остаточной фракции вслед-

ствие максимального нахождения ТМ в подвижных фракциях, за исключением водорастворимой. В вариантах с *P. fluorescens* 20 и *P. putida* 23 в остаточной фракции содержалось 44–46% Ni. Уменьшение доли Ni в остаточной фракции при ее увеличении в обменной и в меньшей степени в специфически сорбированной фракции наблюдалось с увеличением количества внесенного NiNO₃ в почву [4]. Проведенные исследования показали, что при загрязнении почвы Ni, применение бактерий оказывало существенное влияние на распределение ТМ в почве в фазе трубкования по всем почвенным фракциям, кроме водорастворимой. Внесение бактерий в наибольшей степени увеличило содержание Ni в составе обменной и в специфически сорбированной фракции и в меньшей степени — во фракциях, связанных с органическим веществом и железистыми минералами и, тем самым, уменьшило долю ТМ в остаточной связанной с глинистыми минералами фракции. Бóльшее накопление Ni в растениях при применении бактерий, а, следовательно, усиление фитоэкстракции, вероятно, было обусловлено увеличением биодоступности ТМ вследствие увеличения его содержания в подвижных, прежде

всего, в обменной и специфически сорбированной фракциях. Количество Ni в обменной форме оказывало наибольшее влияние на содержание ТМ в растениях люпина и овса [22]. Нахождение Ni в почве в составе относительно подвижных обменной и специфически сорбированной фракций при внесении исследуемых бактерий рода *Pseudomonas*, вероятно, можно объяснить продуцированием бактериальных сидерофоров, которые образуют растворимые комплексы с Ni [36]. Ранее установлено, что под влиянием этих бактерий происходило увеличение содержания Pb и Cd в почве во фракции, связанной с органическим веществом [10, 11].

При полной спелости растений в опыте 2 в отличие от фазы трубкования в опыте 1 вне зависимости от внесения бактерий обнаружено примерно одинаковое распределение Ni по всем выделенным фракциям в почве, в том числе в остаточной фракции, связанной с глинистыми минералами. Следовательно, бактерии оказывали влияние на фракционный состав соединений Ni в почве только в первой половине вегетационного периода. В фазе полной спелости растений содержание Ni в водорастворимой и обменной фракциях по вариантам в опыте 2 было в несколько раз меньше, чем в опыте 1 в фазе трубкования. Напротив, содержание ТМ в специфически сорбированной и органической фракциях по вариантам было почти в 2 раза больше при полной спелости растений, чем в фазе выхода в трубку. Доля Ni во фракции, связанной с железистыми минералами, была примерно на одном уровне в обоих опытах. Эти результаты показывают, что от фазы выхода в трубку к моменту полной спелости растений вне зависимости от внесения бактерий происходило уменьшение подвижности Ni в почве вследствие уменьшения доли водорастворимой и обменной форм ТМ и увеличения доли специфически сорбированных и связанных с органическим веществом форм Ni.

ВЫВОДЫ

1. Внесение PGPR *P. fluorescens* 20, *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23 повышало устойчивость яровой пшеницы к токсическому действию Ni при искусственном загрязнении агросерой почвы ТМ в количестве 200 и 300 мг/кг почвы. Применение культуры бактерий увеличило массу вегетативных органов, зерна, соломы и корней, значительно уменьшая токсическое действие никеля в фазе трубкования растений и полностью устраняя фитотоксичность ТМ при полной спелости растений.

2. Внесение бактерий усилило фитоэкстракцию — очистку почвы от Ni, увеличивая его вынос надземными органами растений и способствовало ремедиации загрязненной ТМ почвы, не изменяя или увеличивая содержание Ni в вегетатив-

ных органах, без значимых его изменений в зерне и соломе.

3. Устойчивость растений к токсическому действию Ni при применении бактерий была обусловлена: а) стимуляцией роста корневой системы и увеличением накопления ТМ в корнях — усилением барьера на границе надземные органы растений — корни, б) улучшением минерального питания инокулированных бактериями растений — увеличением выноса ими из загрязненной почвы биофильных элементов.

4. Увеличение выноса биофильных элементов растениями из загрязненной почвы при применении бактерий происходило вследствие стимуляции роста и увеличения массы растений, в целом без существенных изменений содержания большинства элементов в растениях, том числе в зерне.

5. Установлено распределение Ni в почве во фракциях, выделенных методом последовательных селективных экстракций. Основное количество ТМ было сосредоточено в остаточной фракции, связанной с глинистыми минералами. В первой половине вегетационного периода (в фазе трубкования) при применении бактерий происходило максимальное увеличение содержания Ni в обменной и специфически сорбированной фракциях, в меньшей мере — во фракциях, связанных с органическим веществом и с железистыми минералами, при значительном уменьшении доли ТМ в остаточной фракции. Изменения в фракционном составе Ni в наибольшей степени были выражены при внесении бактерии *P. fluorescens* 21.

6. Увеличение поступления Ni в растения в фазе выхода в трубку при применении бактерий было связано с уменьшением закрепления ТМ в почве в составе соединений, прочно связанных с глинистыми минералами, и увеличением в основном в составе обменной и специфически сорбированной фракций.

7. При полной спелости растений по сравнению с фазой трубкования обнаружено уменьшение содержания Ni в водорастворимой и обменной фракциях в почве и увеличение содержания ТМ в составе специфически сорбированной и связанной с органическим веществом фракциях без значимых изменений в фракционном составе Ni в почве под влиянием бактерий.

8. Увеличение поступления Ni и биофильных элементов в растения из загрязненной почвы при внесении бактерий происходило без изменений реакции почвенной среды и, вероятно, было обусловлено образованием бактериальных сидерофоров.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят ЦКП ИФХиБПП РАН за определение зольных элементов в растворах, химических и физических свойств исходных образцов почв.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзаданий 121041500050-3 и 121040800142-5.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что конфликты интересов отсутствуют.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анохина Т.О., Сиунова Т.В., Сизова О.И., Захарченко Н.С., Кочетков В.В. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas* в современных агробиотехнологиях // Агрохимия. 2018. № 10. С. 54–66. <https://doi.org/10.1134/S0002188118100034>
2. Водяницкий Ю.Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами и их экологическая опасность (аналитический обзор) // Почвоведение. 2013. № 7. С. 872–881. <https://doi.org/10.7868/S0032180X130501171>
3. 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.
4. Ладонин Д.В. Фракционный состав тяжелых металлов в почвах, загрязненных оксидами и легкорастворимыми солями в модельном эксперименте // Формы соединений тяжелых металлов в техногенно-загрязненных почвах. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2019. 312 с.
5. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения // Физиология растений. 2006. Т. 53. № 2. С. 285–308.
6. Соколова М.Г., Белоголова Г.А., Гордеева О.Н., Акимова Г.П. Влияние ризосферных бактерий на рост растений и накопление ими тяжелых металлов на техногенно загрязненных почвах // Агрохимия. 2014. № 2. С. 73–80.
7. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Л.А. Воробьевой. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.
8. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН. Ин-т биологии, 2014. 194 с.
9. Шаббаев 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. Шаббаев В.П. Почвенно-агрохимические аспекты ремедиации загрязненной свинцом почвы при внесении стимулирующих рост растений ризосферных бактерий // Почвоведение. 2012. № 5. С. 601–611.
11. Шаббаев 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>
12. Ameen N., Amjad M., Murtaza B., Abbas G., Shahid M., Imran M., Naeem M A., Niazin N.K. Biogeochemical behavior of nickel under different abiotic stresses: toxicity and detoxification mechanisms in plants. Review // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2019. V. 26. № 11. P. 10496–10514. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04540-4>
13. Backer R., Roken J.S., Ilangumaran G., Lamont J., Praslickova D., Ricci E., Subramanian S. Smith D.L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Review article // Front. Plant Sci. 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
14. Barman M., Datta S.P., Rattan R.K., Meena M.C. Chemical fractions and bioavailability of nickel in alluvial soils // Plant Soil Environ. 2015. V. 61. № 1. P. 17–22. <https://doi.org/10.17221/613/2014-PSE>
15. 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>
16. Dorjey S., Dolkar D., Sharma R. Plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas*: A review // Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2017. V. 6. № 7. P. 1335–1344. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.160>
17. Farwell A.J., Vesely S., Nero V., Rodrigues H., McCormack K., Shah S., Dixon D.G., Glick B.R. Tolerance of transgenic canola plants (*Brassica napus*) amended with plant growth-promoting bacteria to flooding stress at a metal-contaminated field site // Environ. Pollut. 2007. V. 147. № 3. P. 540–545. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.10.014>
18. Farwell A.J., Vesely S., Nero V., Rodriguez H., Shan S., Dixon D.G., Glick B.R. The use of transgenic canola (*Brassica napus*) and plant growth-promoting bacteria to enhance plant biomass at a nickel-contaminated field site // Plant Soil. 2006. V. 288. № 1–2. P. 309–318. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9119-y>
19. Gupta G., Parihar S.S., Ahirwar N.K., Snehi S.K., Singh V. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture // J. Microb. Biochem. Technol. 2015. V. 7. № 2. P. 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
20. Handsa A., Kumar V., Anshumali A., Usmani Z. Phytoremediation of heavy metals contaminated soil using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A cur-

- rent perspective // Recent Res. Sci. Technol. 2014. V. 6. № 1. P. 131–134.
<http://recent-science.com/>
21. Hassan M.U., Chattha M.U., Khan I., Chattha M.B., Aamer M., Nawaz M., Ali. A., Khan M.A.U., Khan T.A. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities – a review // Environ. Sci. Pollut. Res. 2019. V. 26. № 13. P. 12673–12688.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-04892-x>
 22. Jakubus M., Graczyk M. Availability of nickel in soil evaluated by various chemical extractants and plant accumulation // Agronomy. 2020. V. 10. № 11. 1805.
<https://doi.org/10.3390/agronomy10111805>
 23. Kalita M., Bharadwaz M., Dey T., Gogoi K., Dowarah P., Unni B.G., Ozah D., Saikia I. Developing novel bacterial based bioformulation having PGPR properties for enhanced production of agricultural crops // Ind. J. Exp. Biol. 2015. V. 53. № 1. P. 56–60.
 24. Ma Y., Rajkumar M., Freitas H. Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPR from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by Brassica spp // Chemosphere. 2009. V. 75. № 6. P. 719–725.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.056>
 25. Ma Y., Rajkumar M., Luo Y., Freitas H. Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants-effects on plant growth and Ni uptake // J. Hazard. Mater. 2011. V. 195. P. 230–237.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.034>
 26. Microbes for Sustainable Development and Bioremediation / Eds. R. Chandra, R.C. Sobti. Boca Raton: CRC Press, 2020. 386 p.
<https://doi.org/10.1201/9780429275876>
 27. Mishra J., Singh R., Arora N.K. Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms. Mini review article. // Front. Microbiol. 2017.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01706>
 28. Mishra I., Fatima T., Egamberdieva D., Arora N.K. Novel bioformulations developed from *Pseudomonas putida* BSP9 and its biosurfactant for growth promotion of *Brassica juncea* (L.) // Plants (Basel). 2020. V. 9. № 10. 1349.
<https://doi.org/10.3390/plants9101349>
 29. Mitra D., Andjelković S., Panneerselvam P., Chauham M., Senapati A., Vasić T., Ganeshamurthy A.N., Verma D., Arya P., Radha T.K., Jain D. Review paper: Plant growth promoting microorganisms helping in sustainable agriculture: current perspectives // Int. J. Agr. Sci. Vet. Med. 2019. V. 7. № 2. P. 50–74.
 30. 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 // Front. Agron. 2021.
<https://doi.org/10.3389/fagro.2021.689972>
 31. Rajkumar M., Freitas H. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard // Bioresour. Technol. 2008. V. 99. № 9. P. 3491–3498.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.046>
 32. 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>
 33. Tank N., Saraf M. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR // J. Basic Microbiol. 2009. V. 49. № 2. P. 195–204.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200800090>
 34. Ullah, A., Heng 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>
 35. Wang Y., Wang S., Nan Z., Ma J., Zang F., Chen Y., Li Y., Zhang Q. Effects of Ni on the uptake and translocation of Ni and other mineral nutrition elements in mature wheat grown in sierozems from northwest of China // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2015. V. 22. № 24. P. 19756–19763.
<https://doi.org/10.1007/s11356-015-5153-8>
 36. Zawadzka A.M., Paszczyński A.J., Crawford R.L. Transformations of toxic metals and metalloids by *Pseudomonas stutzeri* strain KC and its siderophore pyridine-2,6-bis (thiocarboxylic acid) // Advances in Applied Bioremediation (Soil Biology 17). Berlin: Springer-Verlag. 2009. P. 221–238.
https://doi.org/10.1007/978-3-540-89621-0_12

Soil-Agrochemical Aspects of Remediation of Nickel-Contaminated Soil Using Growth-Promoting Rhizosphere Bacteria

V. P. Shabayev^{1, *} and V. E. Ostroumov¹

¹Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science RAS, Pushchino, 142290 Russia

*e-mail: vpsh@rambler.ru

In pot experiments, the effect of introducing rhizospheric bacteria promoting plant growth on the yield and chemical composition of spring wheat when grown in humus horizon of the *Luvic Reti Greyzem Phaeozems* (Loamic) soil artificially contaminated with a water-soluble nickel compound was studied. Application of *P. fluorescens* 20, *P. fluorescens* 21, and *P. putida* 23 bacteria increased plant resistance to elevated nickel concentration and increased yields, significantly reducing or completely eliminating heavy metal phytotoxicity.

The resistance of plants to impact of nickel stress when using bacteria is due to: a) stimulation of root growth and an increase in the accumulation of nickel in the root system, b) improvement in the mineral nutrition of plants – an increase in uptake of biophilic elements from contaminated soil due to an increase in yield, in general, without significant changes in the content of the most elements in plants, including grain. Application of bacteria increased uptake of nickel from the soil by above-ground organs of plants, thereby enhancing phytoextraction – purification from heavy metal and, consequently, soil remediation. The distribution of nickel in soil in fractions isolated by the method of consecutive selective extractions has been established. In the first half of the growing season, application of bacteria increased the content of nickel in the soil, mainly in the exchangeable and specifically sorbed fractions and, to a lesser extent, in fractions associated with organic matter and ferruginous minerals, and decreased content of the metal in the residual fraction. Increase of nickel accumulation in plants in application of bacteria corresponded to increased heavy metal content in soil, mainly in the composition of compounds associated with exchangeable and specifically bound fractions. At full maturity of plants, no significant changes were found in fractional composition of Ni in the soil. Application of bacteria can be recommended in the development of strategies for remediation of nickel-contaminated soils based on environmentally friendly technologies.

Keywords: *Pseudomonas*, *Triticum aestivum* L., Luvic Retic Greyzemic Phaeozems (Loamic), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, chemical composition of plants, fractions of Ni in soil