

ДЕГРАДАЦИЯ,
ВОССТАНОВЛЕНИЕ И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 546.48:549.678:576.851.13:633.16

РЕМЕДИАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННОЙ КАДМИЕМ ПОЧВЫ
ПРИ ПРИМЕНЕНИИ СТИМУЛИРУЮЩИХ РОСТ РАСТЕНИЙ
РИЗОБАКТЕРИЙ И ПРИРОДНОГО ЦЕОЛИТА

© 2020 г. В. П. Шабает^а, Е. А. Бочарникова^{б, *}, В. Е. Остроумов^а

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

^бИнститут фундаментальных проблем биологии РАН,
ул. Институтская, 2, Московская область, Пушкино, 142290 Россия

*e-mail: mswk@rambler.ru

Поступила в редакцию 18.07.2019 г.

После доработки 23.10.2019 г.

Принята к публикации 27.12.2019 г.

В вегетационных опытах изучено влияние двух штаммов бактерий рода *Pseudomonas* и природного цеолита на рост и элементный состав растений ячменя при выращивании на искусственно загрязненном кадмием гумусовом горизонте агросерой почвы (Luvisol). Применение бактерий *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23, или цеолита устраняло токсическое действие тяжелого металла на растения. Не установлено достоверного кумулятивного эффекта совместного внесения *P. fluorescens* 21 и цеолита. Устойчивость растений, подвергнутых кадмиевому стрессу, при применении бактерий и цеолита была обусловлена усилением роста корневой системы, уменьшением содержания кадмия в корнях и улучшением минерального питания растений. Внесение бактерий и цеолита увеличило вынос питательных элементов урожаем из почвы вследствие стимуляции роста растений в целом без существенных изменений концентрации макроэлементов N, P, K, Ca и Mg, а также Fe и микроэлементов Zn, Mn и Cu в растениях, в том числе в зерне. Внесение *P. fluorescens* 21 усилило закрепление Cd в почве в составе органических соединений в первой половине вегетационного периода, вероятно, вследствие секвестирования металла бактериальными сидерофорами. Применение бактерий и природного цеолита может быть рекомендовано при разработке стратегий ремедиации загрязненных кадмием почв на основе экологически безопасных технологий.

Ключевые слова: кадмиевый стресс, ячмень, бактерии рода *Pseudomonas*

DOI: 10.31857/S0032180X20060118

ВВЕДЕНИЕ

Кадмий (Cd) является тяжелым металлом (ТМ) и одним из наиболее опасных и токсичных загрязнителей биосферы. Избыточное поступление Cd в растения выражается в уменьшении выхода и ухудшении качества растительной продукции [4]. Помимо промышленных и бытовых источников загрязнения, Cd поступает в почву с органическими и минеральными удобрениями [3]. В настоящее время в качестве одной из стратегий ремедиации загрязненных ТМ почв рассматривают возможность использования микробно-растительных ассоциаций [10, 25, 31]. В последнее десятилетие наблюдается возрастающий интерес к выделению и изучению микроорганизмов, способных влиять на поступление ТМ в растения и их устойчивость к ТМ [1, 12, 23, 39]. Несмотря на существенную роль, которую играют ризосферные бактерии, стимулирующие рост растений

(PGPR-plant growth promoting rhizobacteria), во взаимодействии с растениями и с почвенной средой, исследований, направленных на изучение механизмов ремедиации почв, загрязненных ТМ, под влиянием этих бактерий, немного. Среди PGPR особое внимание привлекают представители рода *Pseudomonas* благодаря широкой распространенности и присущей им совокупности полезных для растений свойств [22]. Ранее нами была показана высокая эффективность использования на загрязненной свинцом серой лесной почве бактерии *P. fluorescens* 21, которая повышала устойчивость растений ячменя к токсическому действию ТМ и значительно снижала его поступление в вегетативную массу растений на ранних стадиях их развития [15].

В настоящее время для снижения подвижности загрязняющих веществ неорганической природы, а также в качестве почвенных мелиорантов для улучшения агрохимических свойств почв все

большее применение находят минералы с высоким содержанием доступного или растворимого кремния (Si) [6, 21, 36]. Одними из наиболее перспективных в этом отношении являются цеолиты. Цеолиты образуются в результате осаждения растворимых форм Si. Хорошая растворимость по сравнению с другими кремниевыми минералами, а также уникальные сорбционные свойства позволяют рекомендовать их для прочной фиксации тяжелых металлов в почвах и природных водах [6]. Кроме того, природные цеолиты как комплексные мелиоранты повышают плодородие почв, урожайность культур, качество растениеводческой продукции, а также способствуют активизации микробного метаболизма в почвах [16, 18]. Однако многие механизмы прямого и опосредованного действия цеолитов на поведение ТМ в системе почва–растение не выявлены, а комплексное влияние PGPR и цеолитов не исследовано.

Цель исследования – изучение влияния PGPR рода *Pseudomonas* и природного цеолита на рост растений ячменя и элементный состав растений, включая поступление в них Cd, как возможной основы для разработки технологии ремедиации загрязненной Cd агросерой почвы.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили при выращивании ячменя *Hordeum vulgare* L. в вегетационных опытах на гумусовом горизонте агросерой почвы юга Московской области при искусственном загрязнении почвы водорастворимым соединением Cd. Испытывали влияние 21-го штамма бактерии *P. fluorescens*, 23-го штамма бактерии *P. putida* и природного цеолита на рост растений, содержание в них Cd и элементный состав растений. Для опытов использовали бывшую пахотную, среднегуминистую агросерую почву (Luvisol) (слой 0–20 см), последние 5 лет находившуюся в условиях залежи на опытно-полевой станции Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН. В почву, за 10 дней до посева семян, вносили в виде раствора $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, квалификации “х. ч.” (Реахим, Россия) из расчета 10 мг Cd/кг почвы, что в 5 раз превышает ПДК. Соль Cd применяли на фоне внесения NPK-удобрений из расчета по 100 мг действующего вещества на 1 кг почвы соответственно в виде азотнокислого аммония, двухзамещенного фосфорнокислого калия и сернокислого калия. В опытах все варианты выравнивали по азоту, учитывая его количество, внесенное в вариантах с загрязнением почвы солью Cd. При посеве пророщенные семена раскладывали на почве и инокулировали водными суспензиями чистых культур бактерий в водопроводной воде из расчета 10^8 клеток на растение и засыпали 3-сантиметровым слоем почвы. В вариантах без инокуляции бактериями вносили

аналогичным образом адекватное количество автоклавированных бактериальных суспензий. Влажность почвы в сосудах в течение вегетационного периода поддерживали на уровне 60% полной влагоемкости (21 мас. %). Повторность опытов четырехкратная.

Опыт 1. В сосудах диаметром 10 см и высотой 11 см, наполненных 800 г почвы, выращивали по 5 растений ячменя Московский 2 до фазы колошения в течение 45 дней. В вариантах с загрязнением почвы Cd растения выращивали без внесения и с внесением бактерии *P. fluorescens* 21. В контрольном варианте растения выращивали без внесения Cd и бактерии. Почва имела следующие показатели: pH_{KCl} 5.06, $\text{C}_{\text{орг}}$ – 0.96%, $\text{N}_{\text{вал}}$ – 123 мг/кг, Ca и Mg (1 н. KCl) – 4.0 и 1.0 смоль/кг, подвижные P_2O_5 и K_2O (0.2 н. HCl) – 200 и 103 мг/кг почвы соответственно.

Опыт 2. В сосудах, содержащих 5 кг почвы, выращивали по 13 растений ячменя сорта Суздалец до полного созревания. Одновременно с внесением в почву Cd и NPK-удобрений в соответствующих вариантах при набивке почвой сосудов вносили природный цеолит Хотынецкого месторождения Орловской области. Цеолит имел следующий химический состав, %: SiO_2 – 69.0–74.0, Al_2O_3 – 11.4–14.0, CaO – 1.7–3.3, K_2O – 0.5–5.0, Fe_2O_3 – 0.60–1.8, MgO – 0.4–1.7, Na_2O – 0.4–0.9, P_2O_5 – 0.4, TiO – 0.08–0.16, MnO – 0.02–0.05; pH 6.5. Цеолит вносили в дозе 60 г/сосуд или из расчета 12 г/кг почвы, что соответствовало 1.2% от массы почвы. Соль кадмия, удобрения и цеолит перемешивали со всем объемом почвы в сосуде. При загрязнении почвы Cd использовали следующие варианты: без внесения бактерий, с внесением бактерии *P. fluorescens* 21, с внесением бактерии *P. putida* 23, с внесением цеолита и с совместным внесением цеолита и бактерии *P. fluorescens* 21. Кроме того, в опыте в качестве контроля был вариант без внесения Cd, бактерии и цеолита. Почва имела следующие показатели: pH_{KCl} 5.07, $\text{C}_{\text{орг}}$ – 1.14%, $\text{N}_{\text{вал}}$ – 131 мг, Ca и Mg (1 н. KCl) – 5.2 и 1.0 смоль/кг, подвижные P_2O_5 и K_2O (0.2 н. HCl) – 129 и 136 мг/кг почвы соответственно.

Вегетативную массу растений (листья и стебли), зерно, солому (листья, стебли и полосу) и корни высушивали при 70°C и взвешивали. Корни отмывали от почвы водопроводной, а затем – дистиллированной водой. После сжигания растительного материала (0.05–0.1 г) в разбавленной серной кислоте (1 : 2) с катализатором (K_2SO_4 : Zn : Se : $\text{CuSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ = 100 : 24 : 2 : 0.2) определяли содержание валового азота в растворах феноловым методом. Растительный материал (0.4–0.5 г) после сжигания в смеси концентрированных кислот HNO_3 : HClO_4 2 : 1 анализировали на содержание Cd и биофильных элементов. После выращи-

Таблица 1. Масса растений ячменя и содержание Cd в растениях в фазе колошения (опыт 1)

Вариант	Масса растений (сухое вещество), г/сосуд	Содержание Cd в растениях, мг/кг сухой массы
Вегетативная масса		
Контроль – NPK	2.16 ± 0.05a	Следы
Cd + NPK	2.21 ± 0.03a	7b
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	2.14 ± 0.04a	3a
Корни		
Контроль – NPK	0.52 ± 0.06a	Следы
Cd + NPK	0.54 ± 0.05a	81
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	0.62 ± 0.07b	71

Примечание. Средние из четырех повторностей опыта ± доверительный интервал. Ошибки определения содержания Cd в растениях не превышали 15%. Величины, обозначенные разными буквами, отличались при уровне значимости 5%.

вания растений в опытах определяли pH почвенной суспензии в 1 н. KCl вытяжке (почва : раствор 1 : 2.5) [13].

Кроме того, в опыте 1 после срезания растений в фазе колошения фракционировали соединения Cd в почве методом последовательных селективных вытяжек [13]. Выделяли обменную фракцию Cd (экстрагент – Ca(NO₃)₂), специфически сорбированную, связанную с карбонатами (CH₃COOH), связанную с органическим веществом (K₄P₂O₇) и связанную с железистыми минералами (реактив Тамма). Содержание Cd в остаточной фракции (негидролизующей, связанной с глинистыми минералами) определяли по разности между внесенным в почву количеством ТМ и его суммой во фракциях, выделенных указанными выше экстрагентами, и количеством, поглощенным растениями.

Содержание Cd и биофильных элементов P, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu 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), pH – на pH-метре “pH 211” (HANNA instruments, Germany). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета MS Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При применении бактерии *P. fluorescens* 21 в опыте 1 установлено уменьшение более, чем в 2 раза содержания Cd в вегетативной массе растений ячменя (в сумме листьев и стеблей) в фазе колошения, а также в корнях – на 12% по отношению

к контролю – варианту с загрязнением почвы ТМ без внесения бактерии (табл. 1). В корневой системе как неинкулированных, так и инокулированных бактерией растений содержалось примерно на порядок больше металла, чем в вегетативной массе. В суммарной массе растений обнаружено ничтожно малое количество Cd – всего 0.74 и 0.63% от внесенного количества соответственно при загрязнении ТМ без применения и с применением бактерии.

Загрязнение почвы Cd и внесение при этом бактерии не оказывали влияния на рост растений в фазе колошения, исключение составило только увеличение на 16% массы корней инокулированных бактерией растений.

При загрязнении почвы Cd в опыте 2 установлено ингибирующее действие ТМ на рост растений ячменя в фазе полной спелости, которое выражалось в уменьшении биомассы целых растений на 16%, в том числе зерна – на 23% по отношению к контролю – варианту без загрязнения почвы Cd, внесения бактерий и цеолита (табл. 2). Масса соломы растений, подвергнутых кадмиевому стрессу, без применения бактерий и цеолита уменьшалась в виде тенденции, а масса корней – не изменялась. При применении бактерии *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23 не установлено негативного влияния Cd на растения. В загрязненных условиях при инокуляции бактериями масса зерна была больше на 25–30%, а масса соломы и суммарная масса растений – на 22–27% больше, чем у неинкулированных растений.

При внесении *P. putida* 23 и *P. fluorescens* 21 в условиях кадмиевого стресса масса корней возрастала соответственно на 47% и в виде тенденции относительно варианта с загрязнением почвы Cd без бактериальной инокуляции и внесения

Таблица 2. Масса растений ячменя и содержание Cd в растениях в фазе полной спелости (опыт 2)

Вариант	Масса растений (сухое вещество), г/сосуд				Cd в растениях, мг/кг сухой массы		
	зерно	солома	корни	сумма	зерно	солома	корни
Контроль – NPK	33.6	33.4	3.7	70.7	Не обн.		
Cd + NPK	25.9	29.9	3.7	59.5	2	18	143
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	32.4	37.3	4.4	74.0	2	17	88
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	33.7	36.5	5.4	75.6	2	19	90
Cd + цеолит + NPK	32.9	33.7	4.8	71.5	2	16	120
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	35.3	37.4	5.6	78.3	2	15	100
HCP ₀₅	3.0	3.7	1.5	10.0	1.0	3.0	11.1

цеолита. Кроме того, по сравнению с контролем этот показатель увеличился при применении бактерии *P. putida* 23 на 44%. Применение обеих бактерий в загрязненных условиях обеспечило получение такой же массы растений, в том числе зерна, как и у неинокулированных растений без загрязнения почвы.

В вариантах с внесением цеолита, в том числе совместно с бактерией *P. fluorescens* 21, не установлено негативного влияния ТМ на растения в фазе полной спелости, так же как при применении только бактерии *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23. Отдельное внесение цеолита в условиях кадмиевого стресса стимулировало рост корней в виде тенденции по сравнению с контролем. Достоверное увеличение массы корней по сравнению с контролем зафиксировано только при совместном применении цеолита с бактерией *P. fluorescens* 21. Применение в загрязненных условиях цеолита, как с бактериальной инокуляцией, так и без бактериальной инокуляции обеспечило получение такой же массы зерна и надземной биомассы, как и контрольных растений. Следовательно, стимуляция роста растений при применении цеолита отдельно и совместно с бактерией *P. fluorescens* 21 была примерно на одном уровне, как и при применении бактерии *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23.

В фазе полной спелости при загрязнении почвы Cd содержалось 2 мг Cd/кг зерна (выше ПДК в зерне на порядок). Наибольшая концентрация Cd обнаружена в корнях, наименьшая – в зерне. Содержание ТМ в зерне было примерно на порядок меньше, чем в соломе и почти на 2 порядка меньше по сравнению с корневой системой. Внесение бактерий и цеолита не привело к изменениям этого показателя в надземных органах растений. Однако содержание Cd в корнях под влиянием обеих бактерий уменьшалось на 37–38%, при совместном внесении бактерии *P. fluorescens* 21 и цеолита – на 30%, при внесении только цеолита – на 16%.

Величины выноса Cd различными органами растений или количества Cd в мкг/сосуд (в пересчете на массу органов в сосуде) в фазе полной спелости ячменя в опыте 2 представлены в табл. 3. Основное количество (94–95%) аккумулированного в растениях металла было локализовано в соломе и корнях. На долю Cd, перешедшего в зерно, приходилось всего 5–6% от количества металла, поступившего в растения. В корневой системе установлено уменьшение аккумуляции Cd, наиболее значительное – на 26% под влиянием бактерии *P. fluorescens* 21 и в виде тенденции – на 8% при применении *P. putida* 23 по отношению к варианту с загрязнением почвы Cd без внесения бактерий и цеолита. Для соломы при внесении бактерий установлена обратная зависимость – увеличилась аккумуляция Cd на 18–29%. При внесении цеолита как отдельно, так и с бактерией *P. fluorescens* 21, в отличие от применения каждой бактерии, количество металла в соломе и в корнях не изменялось. Однако при применении каждой бактерии и внесении цеолита как отдельно, так и с бактерией *P. fluorescens* 21 примерно в одинаковой степени (на 25–37%) увеличилось количество (в мкг/сосуд) Cd в зерне. В суммарной биомассе растений в фазе полной спелости независимо от применения бактерий и цеолита аккумулировалось примерно одинаковое, ничтожно малое количество Cd – в пределах 2.2–2.5% от внесенной в почву дозы металла. Таким образом, основная часть внесенного Cd (около 98%) после выращивания растений (при отсутствии потерь металла от вымывания из почвы в сосудах) была локализована в почве.

Определение фракционного состава соединений Cd в почве методом последовательных селективных вытяжек в фазе колошения ячменя в опыте 1 показало, что в варианте с внесением бактерии *P. fluorescens* 21 обнаружено увеличение на 22% содержания металла во фракции, связанной

Таблица 3. Вынос Cd растениями ячменя в фазе полной спелости (опыт 2)

Вариант	Вынос Cd растениями				
	зерно	солома	корни	целое растение	
	мкг/сосуд			мг/сосуд	% от внесенного количества
Контроль – NPK	Не обн.	Не обн.	Следы	Следы	Следы
Cd + NPK	52	538	529	1.1	2.2
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	65	634	387	1.1	2.2
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	68	694	486	1.2	2.5
Cd + цеолит + NPK	66	539	576	1.2	2.4
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	71	561	560	1.2	2.4
HCP ₀₅	8	75	69	0.2	

Таблица 4. Фракционный состав соединений Cd в почве в фазе колошения ячменя (опыт 1)

Вариант	Фракция Cd				
	обменная	специфически сорбированная	связанная с органическим веществом	связанная с железистыми минералами	остаточная (связанная с глинистыми минералами)
Cd	Следы	$\frac{0.001}{1.1}$	$\frac{0.014}{15.7}$	$\frac{0.025}{28.1}$	$\frac{0.048}{54.4}$
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21	Следы	$\frac{0.001}{1.1}$	$\frac{0.017}{19.1}$	$\frac{0.020}{22.5}$	$\frac{0.050}{56.5}$

Примечание. Над чертой – ммоль/кг почвы, под чертой – % от внесенного количества. Ошибки определений содержания Cd не превышали 15%.

с органическим веществом, извлеченной пирофосфатом калия (табл. 4). В этом варианте также установлено некоторое увеличение закрепления Cd в остаточной, негидролизуемой фракции, прочно связанной с глинистыми минералами. При этом происходило одновременное уменьшение содержания Cd во фракции, связанной с железистыми минералами. После выращивания растений в почве в обменной и специфически связанной с карбонатами фракциях обнаружена соответственно следовая и незначительная концентрация Cd. Основная часть внесенного в почву металла была локализована во фракциях: связанной с органическим веществом (16–19% от внесенной дозы), связанной с железистыми минералами (23–28%), и составила немногим более 50% в остаточной фракции.

В вариантах с инокуляцией бактериями и в обоих вариантах с внесением цеолита не установлено существенных изменений реакции почвен-

ной среды в фазах колошения и полной спелости растений (табл. 5). Некоторые увеличения значений рН_{KCl} (на 0.1–0.15 ед.) относительно контрольного варианта отмечены в обоих опытах только при загрязнении почвы металлом без внесения бактерий и при внесении бактерии *P. fluorescens* 21.

В табл. 6 представлены данные по содержанию биофильных элементов в растениях ячменя в фазе полной спелости после завершения опыта 2. Под влиянием загрязнения почвы Cd не происходили значительные изменения в содержании большинства изученных макро- и микроэлементов в зерне, кроме увеличения этого показателя для Fe по сравнению с контролем – без загрязнения почвы Cd и без внесения бактерий и цеолита. Для зерна эти изменения в основном были выражены в виде тенденций. В условиях кадмиевого стресса при внесении бактерии *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23, а также в обоих вариантах с цеолитом

Таблица 5. Реакция почвенной среды после выращивания растений

№ опыта	Фаза развития растений	Вариант	pH _{KCl}
1	Колошение	Контроль – NPK	5.13 ± 0.09a
		Cd + NPK	5.23 ± 0.076
		Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	5.23 ± 0.086
2	Полная спелость	Контроль – NPK	5.31 ± 0.07a
		Cd + NPK	5.47 ± 0.086
		Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	5.42 ± 0.096
		Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	5.31 ± 0.06a
		Cd + цеолит + NPK	5.27 ± 0.05a
		Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	5.32 ± 0.05a

Таблица 6. Содержание биофильных элементов в растениях ячменя в фазе полной спелости (опыт 2)

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	
	%					мг/кг растительного материала				
	Зерно									
Контроль – NPK	1.59	0.41	0.56	0.05	0.02	66	56	22	8	
Cd + NPK	1.68	0.44	0.58	0.04	0.02	85	52	18	8	
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	1.42	0.47	0.59	0.03	0.02	95	51	18	8	
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	1.51	0.47	0.57	0.04	0.02	87	52	21	9	
Cd + цеолит + NPK	1.42	0.45	0.58	0.03	0.02	100	53	20	8	
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	1.50	0.50	0.58	0.04	0.02	101	52	18	9	
	Солома									
Контроль – NPK	0.37	0.04	2.5	0.07	0.01	100	20	98	8	
Cd + NPK	0.41	0.06	2.1	0.09	0.01	100	26	78	8	
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	0.37	0.07	2.1	0.08	0.01	110	32	87	8	
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	0.42	0.07	2.4	0.06	0.01	110	51	108	9	
Cd + цеолит + NPK	0.43	0.05	1.9	0.07	0.01	123	36	94	8	
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	0.35	0.06	2.0	0.06	0.01	125	38	89	8	
	Корни									
Контроль – NPK	1.30	0.17	0.19	0.32	0.05	1900	203	151	23	
Cd + NPK	0.97	0.18	0.40	0.32	0.05	1700	240	110	33	
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	1.03	0.15	0.25	0.33	0.07	1600	185	126	27	
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	1.15	0.16	0.24	0.34	0.06	1800	210	124	28	
Cd + цеолит + NPK	1.17	0.16	0.36	0.33	0.06	1600	230	108	27	
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	1.00	0.15	0.36	0.33	0.06	1800	257	127	29	

Примечание. Средние из четырех повторностей. Ошибки определений макро- и микроэлементов по вариантам не превышали соответственно 5 и 15%.

отмечено уменьшение на 10–15% содержания азота в зерне по отношению к контрольному варианту. При применении каждой бактерии и внесении цеолита отдельно или вместе с *P. fluorescens* 21 происходило увеличение содержания Fe в зерне загрязненных растений, достигающее максимальных значений в обоих вариантах с цеолитом, увеличиваясь при этом в 1.5 раза.

Концентрация биофильных элементов в соломе была менее подвержена изменениям под влиянием загрязнения почвы Cd и внесения каждой бактерии. Только в обоих вариантах с цеолитом увеличилось содержание Fe в соломе на 23–25% по отношению к контролю. Изменения элементного состава корней растений в загрязненных условиях в фазе полной спелости, в том числе при

Таблица 7. Вынос биофильных элементов растениями ячменя в фазе полной спелости (опыт 2)

Вариант	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
	Зерно								
	мг/сосуд						мкг/сосуд		
Контроль – NPK	534	138	188	17	6.7	2.2	1.9	739	269
Cd + NPK	435	114	195	10	5.2	2.2	1.4	518	207
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	460	152	191	10	6.5	3.1	1.7	583	201
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	509	159	192	14	6.7	3.0	1.8	708	291
Cd + цеолит + NPK	467	148	191	10	6.5	3.2	1.7	592	263
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	530	177	205	14	7.0	3.6	1.8	638	318
	Целое растение								
	мг/сосуд								мкг/сосуд
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
Контроль – NPK	707	157	1030	52	11.9	12.6	3.2	4.6	622
Cd + NPK	594	139	838	49	10.0	11.4	3.1	3.3	567
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + NPK	643	185	985	55	13.3	14.4	3.7	4.3	708
Cd + <i>P. putida</i> 23 + NPK	724	194	1080	54	13.6	18.6	4.8	5.3	777
Cd + цеолит + NPK	668	173	848	50	12.8	15.6	4.0	4.3	663
Cd + <i>P. fluorescens</i> 21 + цеолит + NPK	717	208	953	54	14.0	18.2	4.6	4.7	778

Примечание. Выделенные значения превышали величины в варианте Cd без внесения бактерий и цеолита при уровне значимости 5%.

применении бактерий и в обоих вариантах с цеолитом, также были незначительными или выражены в виде тенденций для большинства элементов относительно контроля. Так, в условиях кадмиевого стресса при внесении бактерий и цеолита концентрация азота в корнях уменьшилась на 10–26%. Под влиянием бактерий при загрязнении почвы Cd отмечено увеличение в корнях содержания Mn и одновременное уменьшение содержания в них K и Zn.

При загрязнении почвы Cd в опыте 2 установлено значительное уменьшение выноса зерном (в мг/сосуд и мкг/сосуд) большинства изученных биофильных элементов, без изменений этого показателя для K и Fe относительно контроля (табл. 7). Количество элементов в суммарной биомассе растений в загрязненных условиях также уменьшилось значительно для N, P, K, Mg и Mn и в виде тенденции для остальных элементов. Внесение в загрязненных условиях *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23 существенно увеличило вынос зерном большинства элементов, без изменения количества N и Ca – при применении бактерии *P. fluorescens* 21, и K – при применении обеих бактерий по сравнению с вариантом с загрязнением почвы Cd без внесения бактерий и цеолита. Для

суммарной биомассы растений, инокулированных обеими бактериями, в условиях кадмиевого стресса, так же как для зерна, установлены аналогичные зависимости, за исключением увеличения выноса K и неизменных значений этого показателя для Ca.

При отдельном внесении цеолита в загрязненную Cd почву установлено примерно такое же, как и при применении обеих бактерий, увеличение количества в зерне практически всех элементов, в том числе без изменений выноса зерном K и Ca по сравнению с загрязненным вариантом без бактерий и цеолита. Вынос большинства элементов суммарной биомассой растений в загрязненных условиях под влиянием отдельного внесения цеолита также увеличился и был примерно на одном уровне, как при применении каждой бактерии. При этом исключение, как и для бактерий, этот показатель составил для K и Ca. Совместное применение цеолита и бактерии *P. fluorescens* 21 при загрязнении почвы Cd увеличило количество N, P, K, Ca и Cu в зерне при неизменном выносе или некоторым увеличением выноса остальных элементов зерном по сравнению с отдельным внесением цеолита. При внесении цеолита в загрязненных условиях совместно с бактерией *P. fluorescens* 21 в

суммарной биомассе растений количество P, Fe, Zn и Cu увеличилось значительно, а остальных элементов – в виде тенденции по отношению к варианту только с цеолитом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показали, что внесение *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23, а также природного цеолита полностью устраняло токсическое действие Cd на растения ячменя при выращивании на искусственно загрязненном ТМ гумусовом горизонте агросерой почвы. Применение бактерий и цеолита увеличивало биомассу подвергнутых кадмиевому стрессу растений, в том числе зерна, до уровня не меньшего, чем на незагрязненной почве без бактериальной инокуляции и внесения цеолита. Обе бактерии и цеолит в одинаковой степени стимулировали рост загрязненных растений. При совместном внесении бактерии *P. fluorescens* 21 и цеолита биомасса надземной части и корней растений была максимальной, хотя увеличение по сравнению с этими показателями при отдельном применении бактерии и цеолита было незначительным. Таким образом, применение бактерий или цеолита повышало устойчивость растений к кадмиевому стрессу, которая выражалась в отсутствии негативного влияния металла на рост надземных органов растений. Устойчивость растений к токсическому действию Cd при внесении бактерий и цеолита была обусловлена повышенным ростом корней и уменьшением концентрации Cd в корневой системе. Аналогичная интенсификация укоренения и стимуляция роста растений обнаружены при внесении устойчивого к Cd штамма ризопсевдомонад в загрязненную ТМ почву [23]. Слабыйкумулятивный эффект совместного применения бактерии *P. fluorescens* 21 и цеолита на стимуляцию роста вегетативных органов и корневой системы в условиях кадмиевого стресса, возможно, обусловлен проявлением действия цеолита. Внесение цеолита, улучшая физико-химические свойства почвы [11], могло создать благоприятные условия для развития и активизации аборигенной микрофлоры [37], что снижало эффективность интродукции бактерий.

Многими исследованиями показано, что повышенное содержание Cd в корнеобитаемой зоне тормозит рост и уменьшает массу корней растений [5, 26]. В результате проведенных экспериментов установлено, что загрязнение агросерой почвы Cd из расчета 10 мг/кг почвы не оказало негативного влияния на корневую систему ячменя. Это обусловлено тем, что ячмень является одним из устойчивых видов к токсическому действию Cd в отличие от других злаковых культур [5]. Тем не менее, внесение бактерий и цеолита в загрязненных условиях обеспечило увеличение

массы корней до уровня даже более высокого, чем в контрольном варианте – без загрязнения почвы Cd и без внесения бактерий и цеолита.

Среди токсичных тяжелых металлов Cd примечателен тем, что накапливается в растениях в повышенных концентрациях, это связано с его высокой мобильностью в почве и биодоступностью [30]. Показано, что Cd легко поступает в растения через транспортные мембраны, через которые поглощаются Fe, Zn и Ca [19]. Обнаруженная независимо от применения бактерий и цеолита повышенная концентрация и преимущественная аккумуляция (в мкг/сосуд) Cd в корнях и вегетативных органах растений по сравнению с зерном определяется барьерными функциями корневой системы и вегетативных органов, препятствующими транслокации металла в вегетативные и генеративные органы [2, 14]. Увеличение при инокуляции бактериями накопления Cd в соломе и зерне при неизменных значениях этого показателя в суммарной биомассе показывает, что бактерии усилили процесс транслокации металла из корней в надземные органы растений. Вследствие этого, вероятно, не происходило изменения (уменьшения) концентрации металла в зерне и соломе под влиянием бактерий. Это, вероятно, было обусловлено тем, что при внесении бактерий усилилось преодоление Cd физиологических барьеров на границах солома–зерно и корни–солома. Ранее установлено, что ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, стимулирующие рост растений, активизировали физиологические процессы в растениях [8].

В отличие от каждой использованной бактерии применение цеолита как отдельно, так и совместно с бактерией *P. fluorescens* 21 в меньшей степени уменьшало концентрацию Cd в корнях, что позволяет предположить о менее значительных проявлениях при этом барьерных функций корней и почвы. Концентрация Cd в соломе в обоих вариантах с цеолитом имела тенденцию к некоторому снижению, при этом наблюдалось статистически значимое уменьшение аккумуляции Cd в надземных органах ячменя по сравнению с инокулированными растениями без внесения цеолита. Концентрация Cd в зерне под влиянием цеолита не изменялась (не уменьшалась), вероятно вследствие того, что усилились транслокация металла в растениях и преодоление Cd барьера на границе солома–зерно.

Одним из факторов положительного влияния цеолита на рост растений и их устойчивость к абиотическим стрессам является способность обеспечивать дополнительное кремниевое питание растений благодаря относительно хорошей растворимости (80.6 мг Si/кг). Известно, что при оптимальных условиях роста в растениях существует равновесие между интенсивностью процес-

сов окислительной деструкции и активностью антиоксидантной системы. Стресс-фактор, включая ТМ, приводит к нарушению равновесия в сторону усиления деструктивных процессов. Установлено, что при выращивании ячменя в условиях кадмиевого стресса цеолит повышает устойчивость растений в результате восстановления равновесия между скоростью окислительной деструкции и активностью антиоксидантной системы [17]. Кроме того, оптимизация кремниевого питания растений усиливает прочность транспортных мембран, что препятствует аккумуляции Cd в надземных органах [29, 41].

В проведенных экспериментах бактерия *P. fluorescens* 21 в условиях кадмиевого стресса по-разному влияла на рост растений и содержание в них металла в зависимости от фазы развития растений. При негативном влиянии Cd на рост растений в фазе полной спелости бактериальная инокуляция стимулировала рост растений, однако не установлено изменений концентрации этого элемента в растениях (опыт 2). Напротив, при отсутствии негативного влияния Cd на рост вегетативной массы в фазе колошения, масса растений при инокуляции бактерией не изменялась, а действие бактерии проявлялось в уменьшении содержания металла в растениях (опыт 1). Известно, что в процессе развития растений происходит перераспределение химических элементов между вегетативными и генеративными органами растений. Одинаковое содержание Cd в растениях в фазе полной спелости при инокуляции и без инокуляции бактерией, вероятно, можно объяснить транслокацией металла в растениях в процессе их онтогенеза.

Обнаруженное увеличение массы растений, подвергнутых кадмиевому стрессу, при внесении ризобактерий и цеолита было также обусловлено улучшением минерального питания растений и увеличением выноса биофильных элементов из почвы урожаем. Увеличение выноса элементов минерального питания растениями в фазе полной спелости при внесении бактерий и цеолита происходило в целом без существенных изменений содержания элементов в вегетативных органах, в том числе в зерне. Следовательно, внесение бактерий и цеолита увеличило вынос питательных элементов растениями из-за стимуляции ростовых процессов в растениях и увеличения урожая. Некоторое уменьшение содержания отдельных элементов в растениях, в частности азота в зерне, K и Zn в корнях инокулированных бактериями растений в загрязненных условиях происходило вследствие биологического или ростового разведения, связанного с увеличением урожая. Уменьшение содержания Cd в корнях, обнаруженное в фазе колошения и при полной спелости растений, при внесении бактерий и цеолита в условиях кадмиевого стресса могло быть также обусловлено ростовым разведением вследствие

увеличения массы корней [32]. Следует отметить, что внесение бактерий рода *Pseudomonas*, обладающих повышенным сродством к Fe(III), увеличило не только аккумуляцию, а также концентрацию этого элемента в зерне, вероятно, вследствие увеличения его биодоступности. Аналогичная зависимость для концентрации Fe, выраженная в несколько большей степени, чем при применении бактерий, установлена и при внесении цеолита отдельно и совместно с бактерией *P. fluorescens* 21, в том числе для соломы. Кроме того, обнаруженный большой вынос растениями многих элементов, в частности P и Fe, при совместном внесении цеолита и *P. fluorescens* 21 по сравнению с вариантом только с цеолитом, несомненно, обусловлен увеличением под влиянием бактерии поглощения растениями содержащихся в цеолите элементов.

Полученные результаты показали, что большая часть внесенного Cd локализуется в почве в составе стабильных соединений, что подтверждает проявление барьерных функций почвы по отношению к тяжелому металлу [9]. Уменьшение содержания и аккумуляции Cd в корнях инокулированных бактериями *P. fluorescens* 21 или *P. putida* 23 растений также связано с усилением под влиянием бактерий барьерных функций почвы и снижением при этом подвижности металла. Полученные результаты показали, что при применении *P. fluorescens* 21 это происходило вследствие связывания Cd в почве в органической фракции, извлеченной пирофосфатом калия. Аналогичное закрепление Pb в почве в органической форме при внесении бактерии *P. fluorescens* 21 и усиление устойчивости растений ячменя в условиях свинцового стресса выявлено ранее при загрязнении ТМ агросерой почвы [15].

Увеличение содержания Cd в почвенной органической фракции при применении бактерии *P. fluorescens* 21, вероятно, обусловлено секвестированием металла продуцируемыми бактерией органическими экзометаболитами – сидерофорами. Флуоресцирующие виды *Pseudomonas* продуцируют высокий уровень сидерофоров – хелатирующих агентов низкомолекулярной массы, обладающих экстремально высоким сродством к Fe(III) [22]. Бактериальные сидерофоры способны влиять на подвижность в почве и биодоступность металлов в результате процессов подкисления, комплексообразования, осаждения и восстановления [35]. В зависимости от состава и концентрации продуцируемых сидерофоров, а также формы и свойств металла, возможно, как увеличение, так и уменьшение его подвижности. Так, установлено, что тиокарбонатная кислота – сидерофор, продуцируемый некоторыми видами *Pseudomonas* – образует растворимые комплексы со многими металлами (Au, Bi, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Nd, Ni, Pd и Zn), но осаждает токсичные ме-

таллы и металлоиды (As, Cd, Hg, Pb, Se, Sn, Te и Tl) из раствора [42]. Селективное осаждение металлов может служить механизмом иммобилизации и детоксикации под действием сидерофоров [20]. Обнаруженное при внесении бактерии *P. fluorescens* 21 увеличение содержания Cd в почве в составе органических соединений могло быть обусловлено образованием нерастворимых комплексов металла с бактериальными сидерофорами. Также возможна биосорбция металла непосредственно бактериальными клетками либо продуцируемыми межклеточными полимерными веществами [34]. Таким образом, присутствие бактерии в составе микробно-растительной ассоциации усилило процесс фитостабилизации [10]. Кроме того, фитосидерофоры, выделяемые корнями злаковых культур, являются важным механизмом детоксикации Cd [5].

Внесение ризобактерий и цеолита при загрязнении почвы Cd не приводило к существенным изменениям реакции почвенной среды, которая является важным фактором, влияющим на подвижность в почве и доступность растениям двухвалентных катионов.

Положительное действие цеолита или цеолита совместно с бактерией *P. fluorescens* могло быть обусловлено несколькими механизмами прямого и опосредованного воздействия на систему почва–растение. Во-первых, катионы Cd могут прочно сорбироваться на поверхности и в межпространстве цеолита [24]. Во-вторых, увеличение концентрации монокремниевой кислоты в почвенном растворе улучшает сорбционные свойства других почвенных минералов, включая кварцевый песок, по отношению к Cd [28]. Однако в нашем эксперименте были использованы невысокие дозы цеолита, поэтому его влияние на подвижность Cd в почве могло быть незначительным. Известно, что образующаяся при растворении цеолита кремниевая кислота способствует улучшению фосфорного питания растений в результате реакции замещения почвенных фосфат-анионов на силикат-анионы в фосфатах кальция, магния, железа или алюминия [33].

Дополнительное питание растений Si обеспечивает увеличение концентрации мономеров и полимеров кремниевой кислоты в межклеточном и внутриклеточном пространстве растений [7]. Эти соединения способны деактивировать Cd внутри растений в результате образования труднорастворимых силикатов, а также капсулирования металла [27, 40].

К опосредованному действию цеолита на устойчивость растений к кадмиевой токсичности можно также отнести защиту клеточных органелл (хлоропласта, митохондрий и др.) от окислительных деструктивных процессов и усиление активности процесса фотосинтеза [17, 38].

Таким образом, вследствие процессов, происходящих в растениях и в почве, при внесении бактерий и цеолита могла уменьшиться биодоступность Cd и повыситься устойчивость растений к повышенным концентрациям ТМ в начальные, наиболее критические периоды роста растений.

ВЫВОДЫ

1. В вегетационном опыте внесение PGPR *P. fluorescens* 21, *P. putida* 23 и/или природного цеолита в искусственно загрязненный Cd гумусовый горизонт агросерой почвы полностью устраняло фитотоксичность ТМ при выращивании растений ячменя. Бактерии и цеолит в условиях кадмиевого стресса стимулировали рост и повышали массу растений, обеспечивая получение одинаковой биомассы, в том числе зерна, как и на не загрязненной Cd почве без бактериальной инокуляции и цеолита.

2. Устойчивость растений к токсическому действию Cd при использовании бактерий и цеолита была обусловлена повышенным ростом корней, снижением содержания ТМ в корневой системе, увеличением выноса из почвы биофильных элементов урожаем и улучшением минерального питания растений.

3. Увеличение выноса биофильных элементов растениями под влиянием бактерий и цеолита происходило вследствие стимуляции роста растений, в целом без существенных изменений концентраций макроэлементов N, P, K, Ca и Mg, а также Fe и микроэлементов Zn, Mn и Cu в растениях, в том числе в зерне.

4. На примере внесения бактерии *P. fluorescens* 21 установлено уменьшение содержания Cd в вегетативной массе растений в первой половине вегетационного периода. Внесение бактерий и цеолита усилило транслокацию металла в растениях и не оказывало влияния на содержание Cd в надземных органах растений в фазе полной спелости, включая зерно.

5. Положительное действие бактерий также связано с усилением барьерных функций почвы, препятствующих проникновению Cd в корневую систему растений. Уменьшение биодоступности Cd на примере внесения *P. fluorescens* 21 обусловлено увеличением закрепления металла в почве в первой половине вегетационного периода в составе органических соединений, вероятно, вследствие секвестирования металла бактериальными сидерофорами.

6. Внесение как бактерий, так и цеолита в загрязненных условиях не приводило к существенным изменениям реакции почвенной среды.

7. Совместное внесение бактерии *P. fluorescens* 21 и цеолита обеспечило некоторое дополнительное увеличение массы растений в условиях кадмиево-

го стресса по сравнению с их отдельным применением.

8. Применение бактерий и природного цеолита, способствующих устойчивости растений к фитотоксичности Cd, может быть рекомендовано при разработке стратегий ремедиации почв, загрязненных ТМ, на основе экологически безопасных технологий. Бактерии могут быть использованы для создания инокулята (бактериального препарата) для повышения продуктивности ячменя, возделываемого на загрязненных Cd почвах.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

В работе использованы материалы исследований по теме госзаданий № АААА-А18-118013190180-9, АААА-А17-117030110139-9 и АААА-А18-118013190181-6.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

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 // *Агробиохимия*. 2018. № 10. С. 54–66. <https://doi.org/10.1134/S0002188118100034>
2. Барсукова В.С. Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам. Новосибирск: Ин-т почвоведения и агрохимии, 1997. Вып. 47. 63 с.
3. Водяницкий Ю.Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами и их экологическая опасность (аналитический обзор) // *Почвоведение*. 2013. № 7. С. 872–871.
4. Ильин В.Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва-растение. Новосибирск: Наука, 2012. 220 с.
5. Казнина Н.М., Титов А.Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Роасеае // *Успехи современной биологии*. 2013. Т. 133. № 6. С. 588–603.
6. Леднев А.В., Ложкин А.В. Ремедиация загрязненных кадмием агродерново-подзолистых почв // *Почвоведение*. 2017. № 5. С. 624–633.
7. Матыченков В.В., Бочарникова Е.А., Кособрюхов А.А., Биль К.Я. О подвижных формах кремния в растениях // *Доклады РАН*. 2008. Т. 418. №. 2. С. 279–281.
8. Минеев В.Г., Сафрина О.С., Шабаев В.П. Влияние бактерий рода *Pseudomonas* на некоторые физиолого-биохимические процессы в растениях столовой свеклы // *Доклады ВАСХНИЛ*. 1992. № 1. С. 16–21.
9. Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Назаренко О.Г. Состав соединений тяжелых металлов в почвах Ростов-на-Дону: Эверест, 2009. 208 с.
10. Назаров А.В., Иларионов С.А. Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации // *Биотехнология*. 2005. № 5. С. 54–62.
11. Романов Г.А. Цеолиты: эффективность и применение в сельском хозяйстве. М.: Росинформагротех, 2000. 291 с.
12. Соколова М.Г., Белоголова Г.А., Акимова Г.П., Вайшля О.Б. Влияние инокуляции ризосферными бактериями на рост растений и транслокацию микроэлементов из загрязненных почв // *Агробиохимия*. 2016. № 7. С. 72–80.
13. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Воробьевой Л.А. М.: ГЕОС, 2006. С. 295–296.
14. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдунен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2007. 172 с.
15. Шабаев В.П. Почвенно-агробиохимические аспекты ремедиации загрязненной свинцом почвы при внесении стимулирующих рост растений ризосферных бактерий // *Почвоведение*. 2012. № 5. С. 601–611.
16. Ahmed O.H., Sumalatha G., Muhamad A.N. Use of zeolite in maize (*Zea mays*) cultivation on nitrogen, potassium and phosphorus uptake and use efficiency // *Int. J. Physic. Sci.* 2010. V. 5. № 15. P. 2393–2401.
17. Balakhnina T., Bulak P., Matichenkov V., Kosobryukhov A., Wlodarczyk T. The influence of Si-rich mineral zeolite on the growth processes and adaptive potential of barley plants under cadmium stress // *Plant Growth Regul.* 2015. V. 75. № 2. P. 557–565. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-0021-y>
18. Campos Bernardi A.C., Oliviera P.P.A., de Melo Monte M.B., Souza-Barros F. Brazilian sedimentary zeolite use in agriculture // *Micropor. Mesopor. Mat.* 2013. V. 16. P. 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.06.051>
19. Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // *Planta*. 2001. V. 212. № 4. P. 475–486. <https://doi.org/10.1007/s004250000458>
20. Cortese M.S., Paszczynski A., Lewis T.A., Sebat J.L., Borek V., Crawford R.L. Metal chelating properties of pyridine-2,6-bis(thiocarboxylic acid) produced by *Pseudomonas* spp. and the biological activities of the formed complexes // *Biomaterials*. 2002. V. 15. № 2. P. 103–120. <https://doi.org/10.1023/A:1015241925322>
21. Damian F., Damian G., Lacatusu R., Postolache C., Iepure G., Jelea M., Nasui D. The heavy metals immobilization in polluted soils from Romania by the natural zeolites use // *Carpathian J. Earth Environ. Sci.* 2013. V. 8. № 4. P. 231–250.
22. Dorjey S., Dolkar D., Sharma R. Plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas*: A review // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2017. V. 6. № 7. P. 1335–1344. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2017.602.160>
23. Ganesan V. Rhizoremediation of cadmium soil using a cadmium-resistant plant growth-promoting rhizopseudomonad // *Curr. Microbiol.* 2008. V. 56. № 4. P. 403–407. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9099-7>
24. Hamidpour M., Afyuni M., Kalbasi M., Khoshgoftarmans A., Inglezaki V. Mobility and plant-availability of

- Cd(II) and Pb(II) adsorbed on zeolite and bentonite // Appl. Clay Sci. 2010. V. 48. № 3. P. 342–348. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.01.004>
25. *Handsa A., Kumar V., Usmani Anshumali and Zeba.* Phytoremediation of heavy metals contaminated soil using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A current perspective // Recent Res. Sci. Technol. 2014. V. 6. № 1. P. 131–134.
 26. *Jali P., Pradhan C., Das A. B.* Effects of cadmium toxicity in plants: a review article // Sch. Acad. J. Biosci. 2016. V. 4. № 12. P. 1074–1081. <https://doi.org/10.21276/sajb.2016.4.12.3>
 27. *Ji X., Liu S., Huang J., Bocharnikova E., Matichenkov V.* Monosilicic acid potential in phytoremediation of the contaminated areas // Chemosphere. 2016. V. 157. P. 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.029>
 28. *Ji X., Liu S., Hua P., Bocharnikova E.A., Matychenkov V.V., Khomyakov D.M.* Cadmium and arsenic adsorption in aqueous systems in the presence of monosilicic acid // Moscow University Soil Science Bulletin. 2017. V. 72. № 5. P. 199–206. <https://doi.org/10.3103/S0147687417050040>
 29. *Ji X., Liu S., Juan H., Bocharnikova E., Matichenkov V.* Effect of silicon fertilizers on cadmium in rice (*Oryza sativa*) tissue at tillering stage // Environ. Sci. Pollut. R. 2017. V. 24. № 11. P. 10740–10748. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8730-1>
 30. *Kabata-Pendias A.* Trace Elements in Soils and Plants. London: Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2011. 548 p.
 31. *Khan M.S., Zaidi A., Wani P.A., Oves M.* Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils // Environ. Chem. Lett. 2009. V. 7. № 1. P. 1–19. <https://doi.org/10.1007/s10311-011-0338-y>
 32. *Lebeau T., Braud A., Jüzüquel K.* Performance of bioaugmentation assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: a review // Environ. Pollut. 2008. V. 153(3). P. 497–522. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.09.015>
 33. *Matichenkov V.V., Wei X., Liu D., Bocharnikova E.A.* Theory, practice and prospection of Si fertilizer // Agric. Sci. Technol. 2013. V. 14. № 3. P. 498–502.
 34. *Meliani A., Bensoltane A.* Biofilm-mediated heavy metals bioremediation in PGPR *Pseudomonas* // J. Bioremediat. Biodegrad. 2016. V. 7. № 5. 370. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000370>
 35. *Mishra J., Singh R., Arora N.K.* Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms // Front Microbiol. 2017. № 8. P. 1706. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01706>
 36. *Mohsen H., Shirani H., Akbari L.* Effects of co-application of zeolites and vermicompost on speciation and phytoavailability of cadmium, lead, and zinc in a contaminated soil // Commun. Soil Sci. Plan. 2017. V. 8. № 3. P. 262–273. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1261885>
 37. *Muhlbachova G., Simon T.* Effects of zeolite amendment on microbial biomass and respiratory activity in heavy metal contaminated soils // Plant Soil Environ. 2003. V. 49. № 12. P. 536–541. <https://doi.org/10.17221/4190-PSE>
 38. *Saeed Z., Naveed M., Imran M., Bashir M.A., Sattar A., Mustafa A.* Combined use of *Enterobacter* sp. MN17 and zeolite reverts the adverse effects of cadmium on growth, physiology and antioxidant activity of *Brassica napus* // PLoS ONE. 2019. V. 14. № 3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213016>
 39. *Treesubuntorn C., Dhurakit P., Khaksar G., Thiravetyan P.* Effect of microorganisms on reducing cadmium uptake and toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) // Environ. Sci. Pollut. Res. 2018. V. 25(26). P. 25690–25701. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9058-6>
 40. *Vaculík M., Lux A., Luxová M., Tanimoto E., Lichtscheidl I.* Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 67. P. 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.012>
 41. *Wei X., Liu Y., Zhan Q., Zhang P., Zhao D., Xu B., Bocharnikova E., Matichenkov V.* Effect of Si soil amendments on As, Cd, and Pb bioavailability in contaminated paddy soils // Paddy Water Environ. 2018. V. 16. № 1. P. 173–181. <https://doi.org/10.1007/s10333-017-0629-4>
 42. *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) / Eds. Singh A., Kuhad R.C., Ward O.P. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 221–238. https://doi.org/10.1007/978-3-540-89621-0_12

Remediation of Cadmium-Polluted Soil Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Natural Zeolite

V. P. Shabayev¹, E. A. Bocharnikova^{2, *}, and V. E. Ostroumov¹

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

²*Institute Basic Biological Problems RAS, Pushchino, 142290 Russia*

*e-mail: mswk@rambler.ru

In pot experiments, the effect of two strains of *Pseudomonas* bacteria and natural zeolite on the growth and elemental composition of barley plants was studied in artificially cadmium-contaminated agrogray soil (Luvisol).

Introduction of *P. fluorescens* 21 or *P. putida* 23, or zeolite eliminated the heavy metal toxicity for plants. The cumulative effect of co-application of *P. fluorescens* 21 and zeolite was insignificant. The bacteria- or zeolite-mediated plant tolerance to cadmium was attributed to the enhanced root system development, decreased cadmium translocation into the roots, and improved plant mineral nutrition. Elevated nutrient uptake by plants as influenced by bacteria and zeolite was the result of the growth stimulation without significant changes in the concentrations of macronutrients N, P, K, Ca and Mg, as well as Fe and micronutrients Zn, Mn and Cu in plant tissues, including grain. Introduction of *P. fluorescens* 21 enhanced the Cd fixation in the soil organic fraction in the first half of the growing season, probably due to the metal sequestration by bacterial siderophores. Application of the bacteria and natural zeolite can be recommended in the strategies for Cd-polluted soil remediation based on environmentally friendly technologies.

Keywords: cadmium stress, barley, bacteria of the *Pseudomonas* genus, silicon-rich mineral