

**І. Є. Заєць¹, Т. М. Вознюк¹, М. В. Ковальчук¹,
С. М. Крамарьов², Н. О. Козировська¹**

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

² Інститут зернового господарства УААН, Київ

АКТИВНІСТЬ КОНСОРЦІУМУ БАКТЕРІЙ В АГРОЦЕНОЗАХ СОЇ НА ЗАБРУДНЕНИХ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ ЧОРНОЗЕМНИХ ТЕРИТОРІЯХ ПРИДНІПРОВ'Я

Анотація: Створено ефективний і зручний у використанні мікробіологічний біопрепарат для вирощування рослин, безпечних для здоров'я людей, на територіях, забруднених важкими металами. Препарат перешкоджає надходженню у рослину токсичних елементів, захищає від хвороб, стимулює розвиток рослини в умовах дефіциту поживних речовин. Препарат являє собою консорціум бактерій з комплексом корисних для рослин властивостей, що забезпечує його багатопільове використання. Він був випробуваний в рамках комплексної програми його вивчення у модельних та природних агроценозах. Основні результати випробування свідчать, що бактерії препарату перешкоджають накопиченню важких металів у надземній частині сої, створюючи тим самим умови для вирощування безпечної врожаю та ремедіації ґрунтів.

Ключові слова: важкі метали, техногенне забруднення ґрунту, бактерійний препарат, біоремедіація.

НАСЛІДКИ ТЕХНОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ТЕРИТОРІЙ УКРАЇНИ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Практично у всіх країнах з розвинутою промисловістю, у тому числі і в Україні (зокрема, в Придніпровському регіоні) в останні десятиріччя спостерігається локальне накопичення рухомих форм важких металів (ВМ) у ґрунті. Нині забруднення навколишнього середовища ВМ з кожним роком набуває все більшого поширення, а поблизу і на околицях великих металургійних комбінатів, коксохімічних заводів та хімічних підприємств ґрунтовий покрив набуває ознаки техногенного ландшафту.

Проблема ВМ дуже актуальна для України у зв'язку з забрудненням ними в тій чи іншій мірі до 20 % сільськогосподарських

угідь, розташованих на відстані до 30 км від великих промислових міст, тобто в приміській зоні. Більша частина ВМ потрапляє в ґрунт у складі викидів промислових підприємств і автотранспорту. Крім аерогенного шляху їх надходження в ґрунт забруднення відбувається і гідрогенним шляхом з посиленою мінералізацією ґрунтових вод. З літературних джерел відомо, що техногенний пил Придніпровського регіону містить у своєму складі низку ВМ: Fe, Mn, Ni, Zn, Cu, Cd, Cr та ін. [1, 2]. Надзвичайно складна екологічна ситуація склалася в ґрунті навколо Криворізького металургійного комбінату: у пробах ґрунту, відібраних на відстані 5 км, виявлено більше 10 найпоширеніших ВМ у небезпечних концентраціях. Аналогічна картина з забрудненням ґрунту спостерігається на околицях міст Дніпро-

дзержинськ, Нікополь, Вільногорськ, Орд-жонікідзе, Марганець та ін.

За даними М. К. Шикули [3], в Україні залишилося лише чотири невеликих регіони, де ґрунти ще не забруднені до небезпечної межі та де ще можна вирощувати безпечну продукцію на рівні найсуворіших світових стандартів. У цих регіонах є біля 8 млн га незабрудненої ріллі; останні 25 млн га зазнали у різній мірі забруднення токсичними речовинами (у тому числі 5 млн га на околицях промислових міст та понад автострадами). Отже, забруднені ґрунти займають значні площі і поки що немає можливості вивести їх із сівозміни, тому що знизиться валовий збір сільськогосподарської продукції. Шляхи запобігання надходженню ВМ у сільськогосподарську продукцію не завжди бувають ефективними. Це пов'язано з тим, що сільськогосподарські рослини не здатні вибірково поглинати хімічні елементи при високому рівні їхнього вмісту в орному шарі. Тому значна частина ВМ надходить з ґрунтів у вегетативні і генеративні органи рослин. Вживання в їжу такої продукції призводить до їх акумуляції в тканинах різних життєво важливих органів тварин та людини, що врешті-решт викликає різноманітні патологічні зміни, серед яких домінують онкологічні захворювання.

Звичайно ж, потрібно шукати шляхи отримання безпечної продукції і на таких ґрунтах. У цих регіонах для вирощування безпечної сільськогосподарської продукції потрібно застосовувати меліоранти [4, 5], а також протектори надходження забруднювачів у рослини. Одним із таких протекторів є мікробіологічні препарати, виготовлені на основі перспективних штамів мікроорганізмів.

РОЛЬ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ У РЕСУРСОЗБЕРІГАЮЧІЙ АГРАРНІЙ ЕКОНОМІЦІ

У сучасному світовому землеробстві виділяється агроекологічний напрямок, який пе-

редбачає застосування технологій вирощування біологічно повноцінних та безпечних сільськогосподарських культур [6]. Створені в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України біологічні препарати забезпечують високу екологічну і економічну ефективність цих технологій. Одним з таких препаратів є КЛЕПС[®], технологію виробництва якого вперше в Україні внесено у державний реєстр [7, 8]. Цим препаратом інокують насіння зернових культур, тим самим інтенсифікуючи активність агроценозів. Це призводить до збільшення виробництва безпечної продукції без використання агрохімічних засобів вирощування врожаїв. За технологією КЛЕПС (Клітини та ЕкзоПоліСахарид) розроблено новий препарат КЛЕПС-Ко для зменшення надходження ВМ у надземну вегетативну частину рослини та зерно. Разом з тим ВМ накопичуються в корінні, що дає можливість вилучати їх із забрудненого ґрунту. Препарат КЛЕПС-Ко являє собою живі клітини кількох видів бактерій родів *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Klebsiella*, *Bacillus*, здатних обмежувати надходження деяких ВМ у рослини *Tagetes patula L.* [9]. Представники цих родів **мають резистентність до високих концентрацій ВМ**. Механізми стійкості до ВМ полягають у формуванні бактеріями нерозчинних комплексів, перетворенні у менш токсичні сполуки за рахунок зміни валентності елементу та виведенні іонним насосом клітини. Значну роль у детоксикації ВМ бактеріями відіграє утворення сполук з екзополімерами мікроорганізмів [10–13]. Наші дані, а також дані [14–17] про обмеження деякими бактеріями надходження ВМ до рослин запевнили нас, що ретельний відбір бактерій може забезпечити оптимальний режим живлення рослини в умовах високих концентрацій токсичних елементів у субстраті та зведення небажаного їхнього впливу на рослину (див. [18]) до мінімуму.

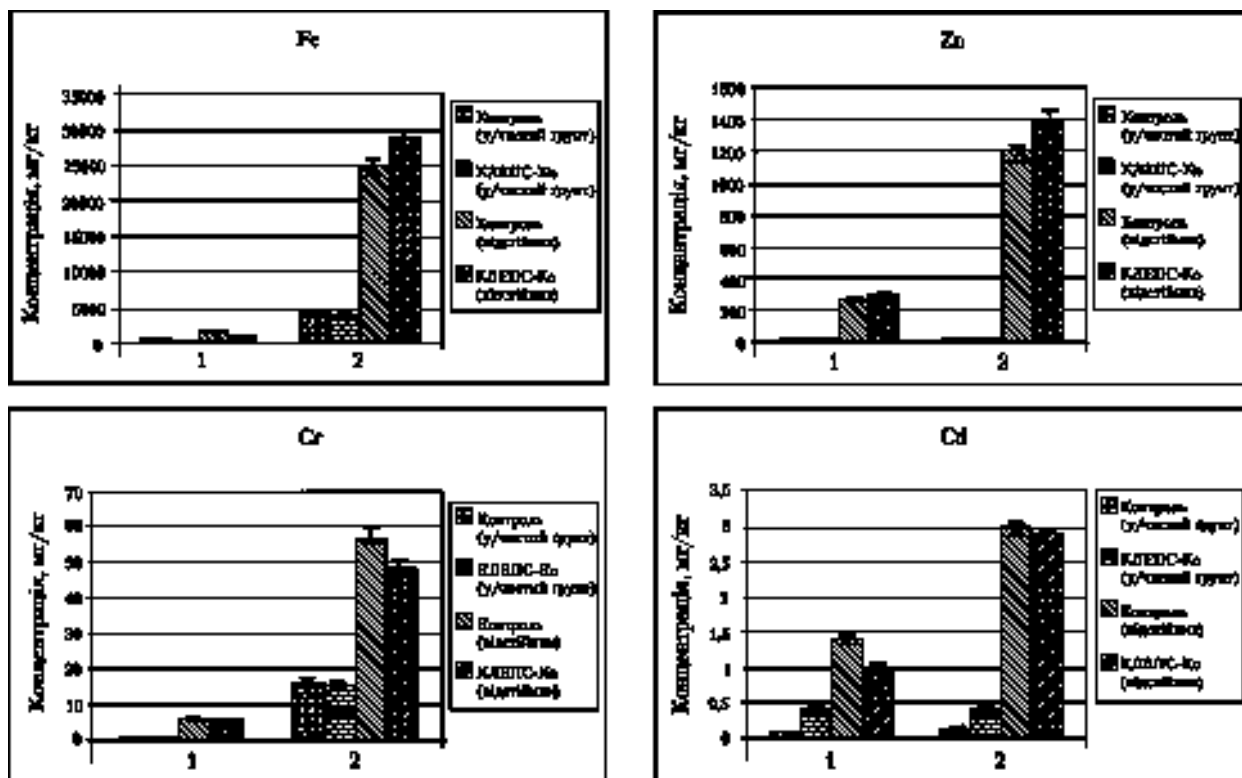


Рис. 1. Доступність важких металів для сої в умовно чистому ґрунті і ґрунті відстійника: 1 – обмінна частка, 2 – кислотна частка

З іншого боку, бактерії відіграють суттєву роль у доставці мікро- та ультрамікроелементів у рослини; отже, бактерії здатні сприяти накопиченню певних хімічних елементів рослинами. Вивчення місця їхнього накопичення рослиною (корінь, стебло, зерно) за допомогою мікроорганізмів визначає стратегію використання системи *рослина-мікроорганізми* для біоремедіації забрудненого ґрунту [19]. Вибір бактерій з селективною здатністю сприяти накопиченню ВМ корінням рослини і зменшувати їхнє накопичення у надземній частині дає змогу використання їх у технологіях біоремедіації, з одного боку, та вирощування безпечних для здоров'я людей врожаїв на проблемних забруднених ґрунтах, з іншого.

Головна мета наших досліджень полягала у вивченні можливостей зниження токсично-

го впливу на с/г культури різного рівня забруднення ґрунту кадмієм (10, 50, 100 ГДК), а також техногенного забруднення ґрунту важкими металами біля Дніпродзержинського коксохімічного заводу.

Дослідження проводилися в 2006 році на Ерастівській державній дослідній станції (ЕДС) Інституту зернового господарства УААН у зерно-паропросапній сівозміні, а також на території відстійника води біля коксохімічного заводу (ВКЗ). Забруднення ґрунту на ЕДС проводили штучно 0,1N водним розчином $CdSO_4$, у ВКЗ – забруднення ВМ техногенного походження. Насіння сої інокулювали біопрепаратом КЛЕПС-Ко безпосередньо перед сівбою. Вміст хімічних елементів у витяжках з ґрунту (кислотна та обмінна частки) та у рослинах визначали методом полуменевої атомно-абсорбційної

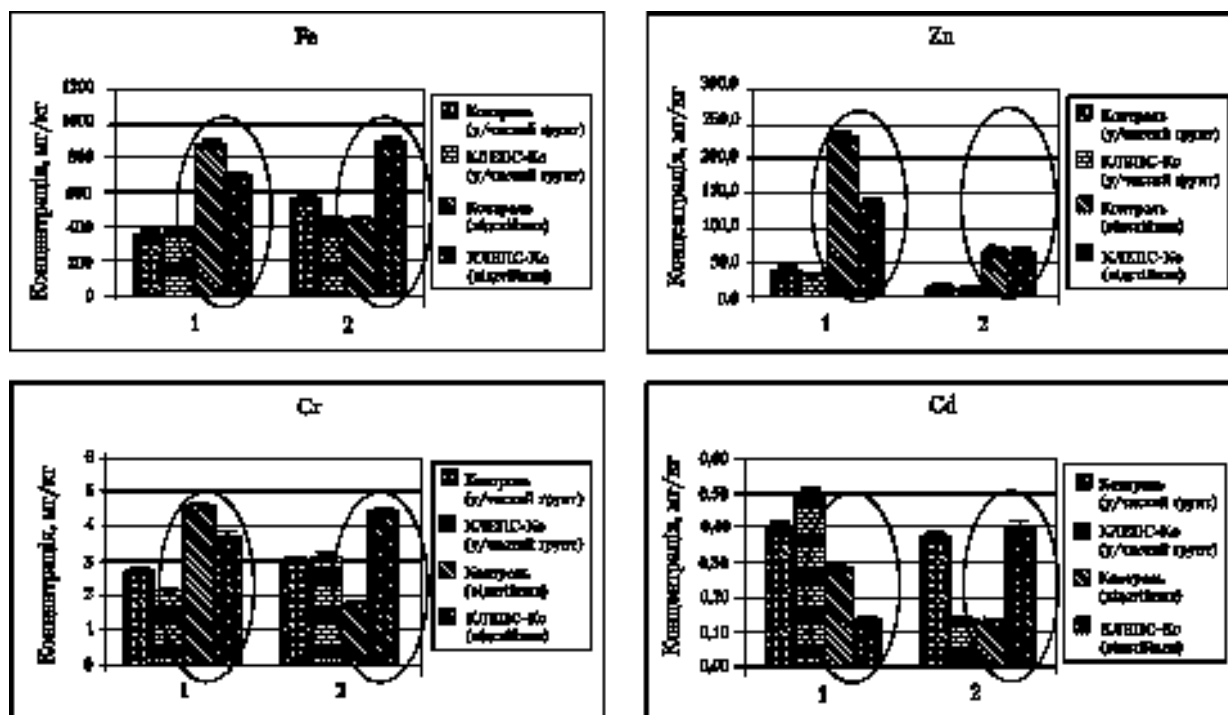


Рис. 2. Вміст важких металів у органах сої в умовно чистому ґрунті і ґрунті відстійника: 1 – листки, 2 – корені. Позначено вміст ВМ в інкульованій сої, вирощеній на забрудненому ґрунті: бактерії препарату зменшують накопичення надземною частиною рослини, сприяючи вирощуванню чистої продукції, і накопичують ВМ у коріннях, надаючи підставу для розробки технології фіторизоекстракції за участі рослин і бактерій в очищенні ґрунту

спектрофотометрії, використовуючи С115-М1 (Селмі, Україна). Активність антиоксидантних ферментів та вміст карбонільних груп білків для характеристики окисного стресу у рослини визначали за методами [20, 21].

ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА НАКОПИЧЕННЯ МІКРО- ТА УЛЬТРАМІКРОЕЛЕМЕНТІВ У ОРГАНАХ СОЇ В УМОВНО ЧИСТОМУ ҐРУНТІ

Рослини не можуть не відбивати в своєму хімічному складі вмісту тих чи інших елементів у ґрунті, однак поглинають їх у інших кількостях та співвідношеннях. Соя (*Glycine max* L.) — відомий накопичувач окремих

важких металів, тому ця рослина є вдалим об'єктом для досліджень процесу акумулявання ВМ рослиною [22]. Елементи живлення знаходяться у ґрунті в різних сполуках, по-різному доступних рослинам. Одні з них можуть використовуватися рослинами безпосередньо (з ґрунтового розчину), інші є найближчим резервом, а окремі сполуки практично недоступні. Рослини здатні засвоювати лише рухомі форми хімічних елементів, котрі розчинні у воді (переважно іони) і слабких кислотах, а також екстрагуються ацетатно-амонійним буфером, рН 4,8 (обмінно-поглинуті ґрунтом катіони та аніони). Ґрунт, на якому вирощувалися рослини сої у наших експериментах на ЕДС, достатньо забезпечений рухомими формами Fe, Zn, Cr та Cd (рис. 1).

Різні органи рослин характеризуються вибіркоvim накопиченням певних елементів. Так, у коренях сої найбільше акумулюється Fe, Cr, в листках — Zn та Cd (рис. 2).

ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА НАКОПИЧЕННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ОРГАНАХ СОЇ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЗАБРУДНЕННІ

У ґрунті, який утворився на місці ВКЗ, визначено високий вміст Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cr та Cd. Причому обмінна частка є високою для всіх елементів — 11 ГДК (гранично допустима концентрація) Zn, 2 ГДК Cd, 1 ГДК Cr; кислотна частка Zn відповідає 20 ГДК, Cd — 3 ГДК, Cr — 4 ГДК (див. рис. 1). У зв'язку з цим у листках сої, що вирощувалась на відстійнику, у 2 рази вищий вміст Fe, у 1,7 — Cr, у 8 — Zn, а Cd менше контрольного рівня в 0,75 разів. Це відповідає 9 ГДК Fe та Cr, 4,6 ГДК Zn. У коренях — вміст Cr та Cd в 1,7 та 2,8 разів, відповідно, менше контрольного, у 2 рази більше Fe, у 5 — Zn (див. рис. 2).

Обробка бактеріальним препаратом насіння сої зменшує рухомість кислоторозчинних форм Cr і Cd та збільшує Fe і Zn у субстраті. При цьому зменшується обмінна частка Fe, Cr, і Cd та збільшується Zn (див. рис. 1). Отже, бактерії зменшують біодоступність майже всіх важких металів, вміст яких є у межах 1÷5 ГДК, шляхом осадження або перетворення в менш токсичні форми. Крім того, вони активують захисні системи самої рослини, що веде до створення бар'єру на шляху транспорту ВМ у надземну частину сої. За рахунок підвищення акумулювання Fe, Cr та Cd у коренях у 2–3 рази (див. рис. 2) знижується вміст у листках Fe, Zn, Cd (у 1,8–2 рази) та Cr (незначно). Однак у кінці вегетації сої у субстраті підвищується вміст рухомого Zn, що є основним забруднювачем. Оскільки його вміст у коренях рослин не відрізняється від контрольного, а у листках навіть змен-

шується, то в даному випадку формування бар'єру відбувається ще раніше — на шляху надходження в рослину.

Отже, результати цих досліджень чітко показують, що у надземних частинах рослини за рахунок бактерій препарату накопичення ВМ зменшується до двох разів, а у коріннях при цьому їхній вміст зростає у 2–3 рази. Такий розподіл ВМ у біомасі рослини сої дозволяє розраховувати на те, що зерно та надземна вегетативна частина рослини буде безпечною для використання, а видалення основної маси коріння після рекультивациі лану можна вважати засобом вилучення ВМ з ґрунту.

ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ В ОРГАНАХ СОЇ ПРИ АЕРОГЕННОМУ ТА ҐРУНТОВОМУ ЗАБРУДНЕННІ КАДМІЄМ

Як зазначалося, основними джерелами надходження ВМ в природне середовище є викиди в атмосферу промислових підприємств та автотранспорту. Ці газоподібні викиди є токсичними для асиміляційних органів рослин; вони ушкоджують компоненти клітин і ферментні системи. У зв'язку з цим виникла необхідність у вивченні захисної дії інокуляції сої мікробіологічним препаратом КЛЕПС-Ко за умов аерогенного забруднення рослин сульфатом кадмію у період їхньої вегетації. Кадмій спричиняє окисний стрес у рослин, що супроводжується підвищенням активності гваяколпероксидаз, синтезом розчинних фенольних сполук та лігніфікацією клітинних стінок кореневого чохла [23]. У рослин детоксикація Cd може відбуватися шляхом зв'язування з відновленим глутатіоном або фітохелатинами з наступним транспортуванням у вакуолі, а також хелатування органічними кислотами корневих виділень [18].

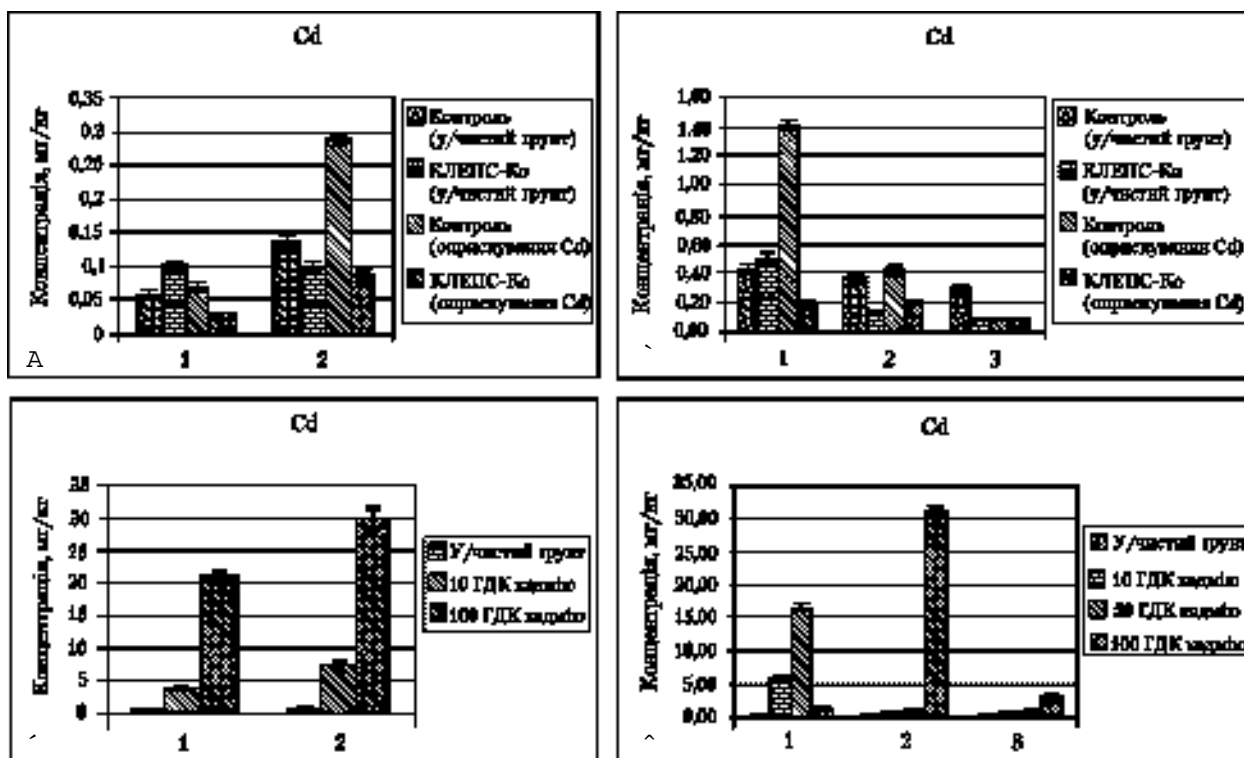


Рис. 3. Вплив бактеріального препарату на накопичення Cd в органах сої, обприсканої розчином 1N сульфату кадмію (А, Б) та вирощеної при різних концентраціях Cd у ґрунті (В, Г). А, В – вміст Cd у ґрунті: 1 – обмінна частка, 2 – кислотна частка. Б, Г – вміст Cd в рослині: 1 – листки, 2 – корені, 3 – боби. Обробка сої бактеріальним препаратом на фоні внесення Cd у концентрації 100 ГДК сприяє затримці Cd у коренях. При 10 і 50 ГДК у ґрунті акумуляція Cd у листках рослин підвищена прямо пропорційно внесеній дозі

У модельних експериментах із забруднення кадмієм сої аерогенним способом на 60 % зростала обмінна фракція Cd (рис. 3А). Збільшення кислотної частки кадмію в 2 рази можна пояснити надходженням елемента у ґрунт під час обприскування та змиванням з листків. Вміст Cd в листках збільшується в 3,5 рази, що, можливо, зумовлено акумуляцією не стільки всередині клітини, як зовні (в продихах, на волосках). Одночасно в 2 рази зменшується накопичення Cd в коренях, а його вміст у бобах був навіть нижче контрольного рівня (без обприскування) (рис. 3Б). Це збігається з даними, отриманими раніше на іншому рослинному об'єкті [24].

Обробка бактеріями зменшує поглинання Cd рослинами, в результаті чого зни-

жується його вміст у надземній частині рослини у 7 разів. Це може бути пов'язане з тим, що бактерії зменшують рухомість кислоторозчинного Cd.

Оскільки ВМ, на відміну від органічних полутантів, не можуть бути повністю деградовані, то їхній вміст з часом без заходів очищення ґрунту лише зростає, а токсичність ґрунту – посилюється. Тому ефективність дії бактеріального препарату КЛЕПС-Ко було перевірено у мікропольових дослідах при концентраціях кадмію, що перевищували гранично допустимі в 10, 50 та 100 разів. У кінці вегетації сої вміст рухомих форм Cd у ґрунті становив у 4–8 і 10–14 разів менше штучно внесених доз (10 і 100 ГДК Cd відповідають 30 і 300 мг/кг ґрунту), причому

обмінна частка була на 30 % менша кислотної (рис. 3В). Доступність Cd при максимальному рівні забруднення лише у 4 рази є більшою, порівняно з мінімальною. Це свідчить про поступовий перехід внесеного кадмію у недоступну для рослин форму, незважаючи на те, що рухомість кадмію при обох внесених дозах перевищує ГДК як по кислоторозчинних (15 і 10 ГДК відповідно), так і по обмінних формах (6 і 21 ГДК відповідно).

Внесення Cd у концентраціях 10 та 50 ГДК майже не відрізняється за своїм ефектом на накопичення цього елемента у коренях і бобах; у листках більша доза викликає зростання накопичення Cd у 3 рази. При збільшенні дози до 100 ГДК максимум накопичення Cd спостерігається в коренях, проте незначно збільшується вміст у бобах, а в листках його рівень знижується майже до контрольного, що свідчить про блокування транспорту елемента з коренів у надземну частину рослини. Це підтверджує факт, що рослини є більш стійкими до високих концентрацій металів у ґрунті, ніж до середніх чи низьких [18].

ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ РОСЛИН ПРИ ЗАБРУДНЕННІ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Схожість неінокульованого насіння сої на відстійнику була значно нижчою (25–30 %), ніж на умовно чистому ґрунті; подекуди проростання затримувалося на 1–2 тижні, що й очікувалося, оскільки перші етапи розвитку є найбільш чутливими до ВМ [18]. Крім того, рослини у контамінованих варіантах відставали у розвитку на 7–14 діб. Галуження пагону, характерного для нормальних рослин, не відбувалося; у більшості рослин спостерігалася відмирання бічних коренів та відсутність бульбочок. Аерогенне забруднення кадмієм несуттєво вплинуло на морфологію рос-

лин сої, проте врожайність зерна зменшилася на 2,0 ц/га (19,2 %) порівняно з контрольним варіантом на умовно чистому ґрунті (рис. 4А). При 10 ГДК Cd у ґрунті морфологічні показники рослин також незначно відрізнялися від контрольних, але підвищення рівня забруднення призвело до того, що рослини мали меншу біомасу, ніж у аналогічних варіантах на неконтамінованому ґрунті; висота стебел зменшувалася на 14–20 %, кількість бульбочок на коренях – на 30,7 % та 44 % при 50 і 100 ГДК Cd відповідно.

Обробка бактеріями насіння сої підвищила ефективність його проростання до 80 % у всіх варіантах забруднення ґрунту ВМ. Інокуляція бактеріями сприяла посиленому розвитку кореневої системи та збільшенню біомаси рослин як на чистому, так і на контамінованому ґрунті. З біопрепаратом врожайність сої на ділянках, штучно забруднених кадмієм, перевищувала варіант без обробки бактеріями на 30 % (рис. 4А). Обробка зерна препаратом дозволила одержати на забрудненому ґрунті не менший врожай (11,0 ц/га), ніж на чистому без обробки препаратом (10,4 ц/га). Ефективність дії бактерій зменшувалася із зростанням концентрації кадмію у ґрунті. На ділянках з рівнями у 10, 50, 100 ГДК відбувалося поступове зниження врожаю на 1,2 ц/га (6,5 %), 2,3 ц/га (11,4 %), і 3,0 ц/га (16,3 %) відповідно (рис. 4Б), але це зниження еквівалентне приросту врожаю зерна, який отримано за рахунок препарату КЛЕПС-Ко на незабрудненому ґрунті.

Отже, препарат КЛЕПС-Ко зменшує негативний вплив ВМ на рослинний організм на техногенно забрудненому ґрунті. Ризосферна та ендодітна мікрофлора препарату бере активну участь у зниженні доступності ВМ для рослин. Відомо, що *Klebsiella* spp. виділяє леткий диметилдисульфід, який преципітує Cd у складі метал-тіолового комплексу (таку ж речовину продукують *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* та ін. бакте-

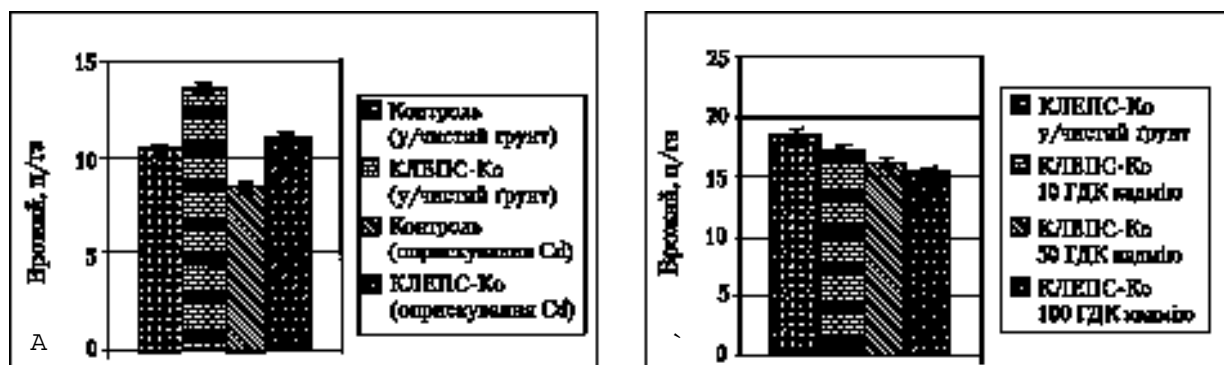


Рис. 4. Вплив бактеріального препарату на врожайність насіння сої при аерогенному забрудненні кадмієм, HP_{05} , ц/га 1,0–1,4 (А); при забрудненні ґрунту кадмієм в 10, 50 і 100 ГДК за валовими формами (Б)

рії). Крім того, такі бактерії здатні преципітувати Cd у вигляді сульфід кадмію на клітинній стінці [25]. Metalli можуть зв'язуватися позаклітинними полісахаридами, наприклад, капсула *Bacillus megaterium* може сорбувати Cu, Fe, Zn, Mn, а ЕПС *Klebsiella oxytoca* – Cd [13]. Зменшення надходження ВМ може пояснюватися глибшим проникненням кореневої системи сої в нижні горизонти ґрунту, в яких відсутні катіони кадмію. Накопичення кадмію в рухомих формах спостерігається тільки в перехідному гумусовому горизонті, а в глибших відбувається хімічне зв'язування кадмію за рахунок ґрунтового карбонату, тому цей хімічний елемент в нижніх горизонтах не проявляє своєї токсичної дії.

Причиною позитивного впливу бактерій препарату КЛЕПС-Ко на рослини сої може також бути індукування бактеріями системного захисту рослин від стресового стану, який спричиняє кадмій або інші ВМ.

РОЗВИТОК ОКИСНОГО СТРЕСУ У РОСЛИН СОЇ ПРИ ЗАБРУДНЕННІ КАДМІЄМ

Кадмій здатний замінювати окремі іони металів (Fe, Cu) у молекулах металопротейнів, що призводить до їхнього вивільнення; залізо каталізує утворення активних форм

кисню (АФК) через реакцію Фентона і це може спричиняти окисний стрес у рослин [26]. Супероксиддисмутаза перетворює АФК у перекис водню, який передає сигнал у клітини для індукції генів клітинних протектантів. Такими протектантами є ферменти системи аскорбат-глутатионового антиоксидантного захисту, злагоджена робота яких забезпечує рівновагу окисно-антиоксидантних реакцій [27]. Підвищені концентрації важких металів призводять до формування у рослин системної стійкості до ВМ [28]. З іншого боку, бактерії також індукують системну стійкість у рослин [29, 30]. Нашим завданням було визначити, чи сприяють бактерії препарату відновленню окисно-антиоксидантної рівноваги у сої, іншими словами, чи полегшують бактерії перебіг окисного стресу рослин сої, які вирощувалися на ділянках, штучно забруднених кадмієм.

Оскільки корені є першим і основним органом у взаємодії рослини з ВМ, то в них мають розгортатися найбільш важливі події, що ведуть до формування системної резистентності рослин до стресорів. При нормальному функціонуванні рослинної клітини існує баланс між активацією та дезактивацією кисню, тому кількість АФК залишається на безпечному рівні. На етапі несправжніх листків при взаємодії бактерій препарату з рослина-

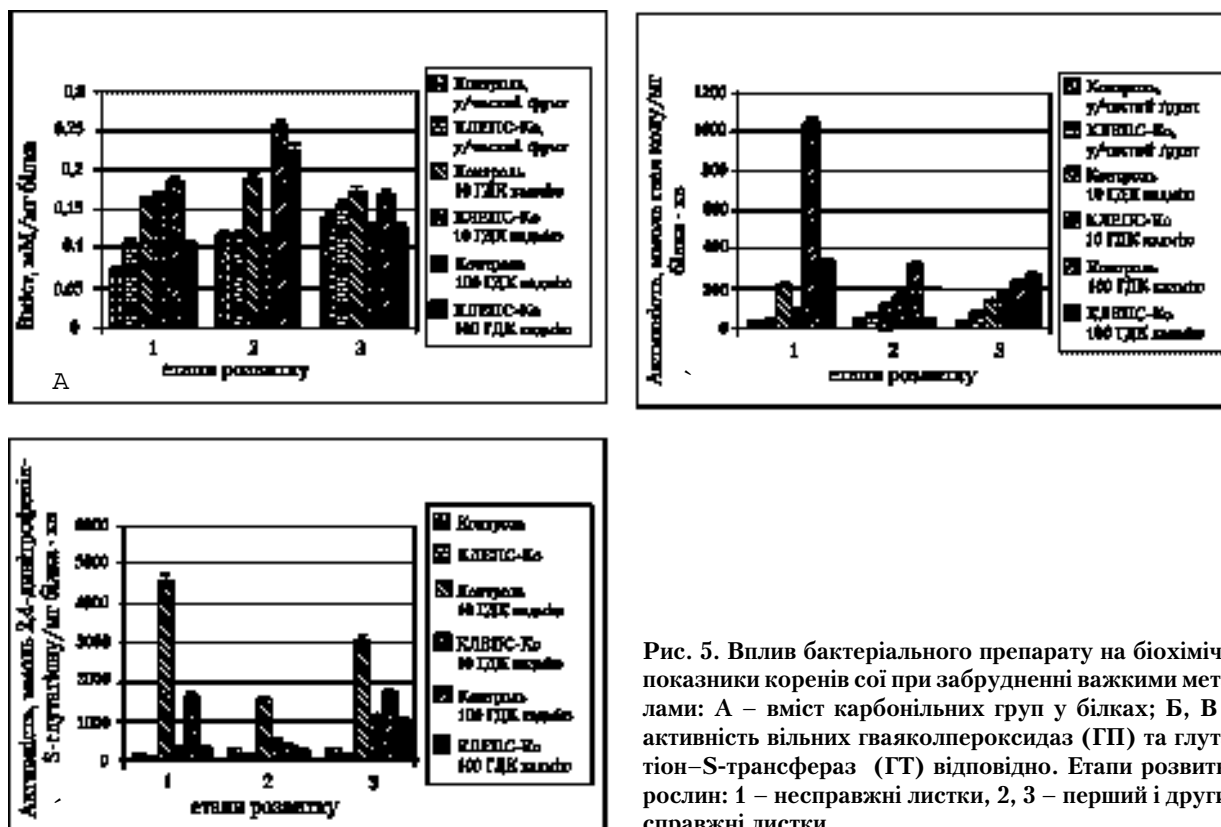


Рис. 5. Вплив бактеріального препарату на біохімічні показники коренів сої при забрудненні важкими металами: А – вміст карбонільних груп у білках; Б, В – активність вільних гваяколпероксидаз (ГП) та глутатіон-S-трансфераз (ГТ) відповідно. Етапи розвитку рослини: 1 – несправжні листки, 2, 3 – перший і другий справжні листки

ми сої, що росте у нормальних умовах, відбувається збільшення продуктів перекисного окислення білків в 1,5 рази; надалі ця різниця з контрольними рослинами зменшується, що свідчить про розвиток короточасного окисного збурення й імунізацію рослин, тобто набуття системної стійкості до стресорів (рис. 5А).

Як при 10, так і при 100 ГДК кадмію у коренях сої посилюється окислення білків прямо пропорційно внесеній дозі металу. На перших етапах розвитку рослин вміст альдегід- та кетопохідних білків у 2,3–2,5 та 1,6–2,2 разів вище контролю. При появі 2-го справжнього листка відмінності більш згладжуються, з чого можна зробити висновок про завершення стадії тривоги (*alarm*) і розвиток резистентності до металу. Отже, обробка біопрепаратом прискорює адаптацію сої до

стресу, хоча при 10 ГДК Cd цей процес розпочинається пізніше. Бактерії сприяють зменшенню інтенсивності окисного збурення, внаслідок чого окислення білків зменшується на 37–43 % на початку та 25–27 % у кінці стадії тривоги і встановлюється на рівні дещо нижче контрольного.

Активність антиоксидантних ферментів, які відіграють роль у захисних механізмах рослини, має значення у детоксикації і акумуляції кадмію у рослинах [24, 31]. З наведених на рис. 5Б та В даних можна зробити висновок, що на початкових етапах розвитку рослин при високих концентраціях кадмію у субстраті рівень перекисного окислення білків залежить від узгодженої роботи антиоксидантних ферментів – вільних гваяколпероксидаз (ГП, КФ 1.11.1.7) та глутатіон-S-трансфераз (ГТ, КФ 2.5.1.18). Активність пе-

роксидизи прямо пропорційна концентрації металу. Причому чим активніше ГП знешкоджує H_2O_2 , тим менше роботи по детоксикації модифікованих білків (а також інших біомакромолекул) залишається для ГТ. Завдяки зниженню надходження ВМ у рослини, бактерії зменшують окисний стрес у коренях сої. Вони сприяють зменшенню навантаження на ферменти внаслідок зменшення кількості їхніх субстратів і, в решті-решт, ГТ "підчищає" залишки окислених білків до базового рівня.

ВИСНОВКИ

На основі проведених досліджень можна зробити висновок, що з метою зниження негативного впливу на рослини сої важких металів за рівнем забруднення ґрунту до 10 ГДК доцільно використовувати мікробіологічний препарат КЛЕПС-Ко для проведення ним передпосівної інокуляції насіння. Цей агрозахід, *по-перше*, дає можливість кореням сої подолати забруднені орний і частково підорний шари ґрунту і утворити розгалужену кореневу систему в нижніх не забруднених генетичних горизонтах ґрунту. *По-друге*, штами бактерій препарату допомагають таким чином подолати їм стрес і нормально розвиватися. *По-третє*, за рахунок механізмів толерантності до ВМ бактерії препарату зменшують біодоступність майже всіх важких металів, вміст яких у ґрунті в межах 1÷5 ГДК. Оскільки вміст ВМ в ґрунтових пробах на території 1–2 км від промислових міст (Дніпропетровськ, Дніпродзержинськ) часто в 5–10 раз перевищує ГДК, препарат після подальшого випробування можна рекомендувати для використання у цих зонах Придніпров'я у дуальній технології вирощування безпечної рослинної продукції і фіторе mediaції.

Проект виконувався за фінансової підтримки НАН України (грант №10/2006).

Автори висловлюють подяку НПП "Екологія–Дніпро 2000" за організаційну допомогу у проведенні експериментів у м. Дніпродзержинську, а також І. Рогуцькому (Інститут фізики НАНУ) та О. Шевченку (Київський Національний університет ім. Т. Шевченка) за критичні зауваження до статті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Шильников И. А., Лебедева Л. А. Факторы, влияющие на поступление тяжёлых металлов в растения. // Агрехимия. – 1994. – № 10. – С. 91–101.
2. Крамарьов С. М., Яковишина Т. Ф. Техногенне забруднення рухомими формами важких металів ґрунту м. Дніпропетровська та його приміської зони. // Агрехимия і ґрунтознавство. Спец. випуск до VI з'їзду УТГА 1 – 5 липня 2002 р., м. Умань. – "ґрунтознавство та агрохімія на шляху до сталого розвитку України". – Книга 3-я. – 2002. – С. 84–85.
3. Ґрунтозахисна біологічна система землеробства в Україні: Монографія. / За ред. Шікули М. К. – К.: Оранта. – 2000. – 389 с.
4. Крамарев С. М., Яковишина Т. Ф., Шевченко В. Н. Экологическая оценка модифицированного сульфатом цинка аммофоса в посевах. // Зерновые культуры. – 2001. – № 3. – С. 14–15.
5. Крамарьов С. М., Яковишина Т. Ф. Детоксикація забруднених важкими металами чорноземів звичайних Придніпров'я. / Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції. – "Проблеми екології та екологічної освіти", Кривий Ріг, "Видавничий дім", 2006. – С. 8–11.
6. Mahoney P. R., Olson K. D., Porter P. M. et al. Profitability of organic cropping systems in south-western Minnesota. // Renewable Agriculture and Food Systems. – 2004. – 19(1). – P. 35–46.
7. Козировська Н. О., Негруцька В. В. Біопрепарат для живлення та захисту рослин Клепс. Патент України 44189 А, 2001.
8. Козировська Н. Вітчизняний біопрепарат для рослин чекає на визнання. // Вісник Національної Академії наук України. – 2000. – 12. – С. 24–28.
9. Zaets I., Voznyuk T., Kovalchuk M. et al. Optimization of plant mineral nutrition under growth-limiting conditions a lunar greenhouse. // Kosmichna Nauka i Technologiya. – 2006. – 12, N 4. – P. 1–8.
10. Lee S.-W., Glickmann E., Cooksey D. A. Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas*

- putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response regulator.
11. **Alonso A., Sanchez P., Martinez J.L.** *Stenotrophomonas maltophilia* D457R contains a cluster of genes from gram-positive bacteria involved in antibiotic and heavy metal resistance. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2000. – 44. – P. 1778–1782.
 12. **Bamberg K. M., Winter W. T., Nakas J. P.** Removal of lead and cadmium by derivatized polysaccharides from *Klebsiella oxytoca*. // *Biofilms.* – 2004. – 1. – P. 57–63.
 13. **Yilmaz E., Ensari N.** Cadmium biosorption by *Bacillus circulans* strain EB1. // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21, N 5. – P. 777.
 14. **Nies D. H.** Microbial heavy-metal resistance. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1999. – 51. – P. 730–750.
 15. **Burd G. I., Dixon D. G., Glick B. R.** Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. // *Can. J. Microbiol.* – 2000. – 46, N 3. – P. 237–245.
 16. **Faisal M., Hasnain S.** Bacterial Cr(VI) reduction concurrently improves sunflower (*Helianthus Annuus* L.) growth. // *Biotechnol. Lett.* – 2005. – 27, N 13. – P. 943–947.
 17. **Rajkumar M., Nagendran R., Lee K. J., Lee W. H., Kim S. Z.** Influence of plant growth promoting bacteria and Cr(6+) on the growth of Indian mustard. // *Chemosphere.* – 2006. – 62, N 5. – P. 741–748.
 18. **Шевченко О. В., Будзанівська І. Г., Патики В. П. та ін.** Вплив важких металів на перебіг вірусних інфекцій рослин. – К.: Фітоцентр. – 2003. – 224 с.
 19. **Le Duc D., Terry N.** Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* – 2005. – 32. – P. 514–520.
 20. **Власова С. Н., Шабуніна Е. И., Переслегина И. А.** Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. // *Лаб. дело.* – 1990. – № 8. – С. 19–21.
 21. **Семчишин Г., Луцак В., Огори К.** Возможные причины различий в чувствительности к кислороду двух штаммов *Escherichia coli*. // *Биохимия.* – 2005. – 70, вып. 5. – С. 514 – 522.
 22. **Сорочинський Б. В., Козировська Н. О.** Біотехнологічні аспекти проблеми фітореMediaції об'єктів навколишнього середовища від радіонуклідних забруднень.// В сб.: *Агробіотехнологія.* – 1998. – вип. 2. – С. 123–130.
 23. **Schützendübel A., Schwanz P., Teichmann T., Gross K., Langenfeld-Heysler R., Godbold D. L., Polle A.** Cadmium-induced changes in Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots // *Plant Physiol.* – 2001. – 127, N 3. – P. 887–898.
 24. **Pereira G. J. G., Molina S. M. G., Lea P. J., Azevedo R. A.** Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant and Soil.* – 2004. – 239. – P. 1123–1132.
 25. **Essa A. M., Creamer N. J., Brown N. L., Macaskie L. E.** A new approach to the remediation of heavy metal liquid wastes via off-gases produced by *Klebsiella pneumoniae* M426. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2006. – 95, N 4. – P. 574–583.
 26. **Stohs S. J., Bagchi D., Hassoun E., Bagchi M.** Oxidative mechanisms in toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – 18. – P. 321–326.
 27. **Yang X. D., Dong C. J., Liu J. Y.** A plant mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase: its precise localization and higher enzymatic activity. // *Plant Mol. Biol.* – 2006. – 62, N 6. – P. 951–962.
 28. **Freeman J. L., Garcia D., Kim D., Hopf A., Salt D. E.** Constitutively elevated salicylic acid signals glutathione-mediated nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. // *Plant Physiol.* – 2005. – 137. – P. 1082–1091.
 29. **Van Peer R., Niemann G. J., Schippers B.** Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control in *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. // *Phytopathology.* – 1991. – 81. – P. 728–734.
 30. **Wei G., Klopper J. W., Tuzun S.** Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. // *Phytopathology.* – 1991. – 81. – P. 1508–1512.
 31. **Israr M., Sahi S.V., Jain J.** Cadmium accumulation and antioxidative responses in the *Sesbania drummondii* callus. *Arch. Environ. Contaminat. Toxicol.* – 2006. – 50. – P. 121–127.

И. Е. Заец, Т. Н. Вознюк, М. В. Ковальчук, С. М. Крамарев, Н. О. Козыровская. АКТИВНОСТЬ КОНСОРЦИУМА БАКТЕРИЙ В АГРОЦЕНОЗАХ СОИ НА ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ЧЕРНОЗЕМНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ПРИДНЕПРОВЬЯ.

Аннотация: Создан эффективный и удобный при использовании биопрепарат для выращивания растений, безопасных для здоровья людей, на территориях, загрязненных тяжелыми металлами. Препарат предотвращает поступление в растение токсичных элементов, защищает от болезней, стимулирует развитие растения в условиях дефицита питательных веществ. Препарат представляет собой консорциум бактерий с комплексом полезных для растений свойств, который обеспечивает его многоцелевое использование. Препарат был испытан в рамках комплексной программы его изучения в модельных и естественных агроценозах. Основные результаты испытания свидетельствуют о том, что бактерии препарата препятствуют накоплению тяжелых металлов в наземной части сои, тем самым создавая условия для выращивания безопасного урожая и ремедиации почв.

Ключевые слова: тяжелые металлы, техногенное загрязнение почвы, бактериальный препарат, биоремедиация.

I. E. Zaetz, T. N. Voznyuk, M. V. Kovalchuk, S. M. Kramarev, N. O. Kozyrovskaya. ACTIVITY OF BACTERIA CONSORTIUM IN SOY AGROCENOSSES ON CHERNOZEMS POLLUTED WITH HEAVY METALS IN PRYDNIPROVIA REGION.

Abstract: The effective and handy form of microbiological inoculant is developed for cultivating safe for health plants on territories contaminated with heavy metals. The microbiological inoculant prevents toxic elements enter into a plant, protects from diseases, stimulates plant growth under nutritives' gap. The inoculant is a consortium of bacteriums with a complex of health-giving features providing its multipurpose use. Preparation was tested in the context of the complex pilot program in model and natural agrocenoses. The basic results reveal that bacteriums of the inoculant hinder from accumulation of heavy metals in over-land part of soy, allowing to grow safe harvests and creating conditions for remediation of soils.

Keywords: heavy metals, antropogenical pollution of soil, inoculant, bioremediation.

Надійшла до редакції 09.02.07.
