

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В.Н. КАРАЗІНА
Біологічний факультет
Кафедра фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

**РОСТОВІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ГАЗОННОЇ ТРАВСУМІШІ
ЗА ШТУЧНОЇ БАКТЕРИЗАЦІЇ І ПРИСУТНОСТІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ
У ҐРУНТІ**

Допущена до захисту
«__»_____2024 р.

Кваліфікаційна робота
студентки 2 курсу
денної форми навчання
другого (магістерського)
рівня вищої освіти
ЖАДАН М.О.

Завідуючий кафедрою _____

Оцінка «_____»
Голова ЕК _____
«__»_____2024 р.

Науковий керівник:
к.б.н., доцент ЗВО
Віннікова О. І.

Харків 2024

АНОТАЦІЯ

Робота викладена на 47 сторінках друкованого тексту, містить 2 таблиці, 7 рисунків, 48 посилань на джерела інформації.

Вивчали вплив важких металів на чисельність окремих видів ґрунтових бактерій, їх колонізувальні властивості та роль у розвитку рослин газонної травосуміші. У роботі використовували ґрунтові бактерії *Azotobacter sp.*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida* і *Bacillus cereus*; та насіння газонної трави (у складі костриця червона, райграс пасовищний багаторічний, костриця очеретяна, райграс однорічний). Визначали число КУО/мл бактерій за умов додавання сульфату свинцю або сульфату цинку до поживного середовища. Також оцінювали схожість насіння, масу рослин і вміст цукрів у листках тритижневих рослин.

Встановлено, що важкі метали негативно впливали на розвиток бактерій, зниження чисельності яких відбувалося переважно вже протягом першої доби культивування. Найбільш чутливими до дії важких металів виявилися бактерії *Azospirillum brasilense*. В цілому, важкі метали знижували адгезивні властивості бактерій та менш суттєво впливали на розвиток бактерій у ризоплані рослин газонної травосуміші. Збільшення маси тритижневих рослин та вмісту цукрів у листках за бактеризації та присутності важких металів можна розцінювати як адаптивні прояви.

Ключові слова: ґрунтові бактерії, дикорослі злаки, колонізація коренів, вміст цукрів у листках.

ЗМІСТ

Вступ.....	4
1. Огляд літератури.....	6
1.1. Бактерії у складі мікрофлори урбаноземів.....	6
1.2. Розвиток стійкості бактеріальної урбанوفлори до дії важких металів.....	9
1.3. Функціонування системи рослина-мікроорганізми за дії важких металів.....	13
2. Матеріали і методи досліджень.....	16
3. Результати досліджень та їх обговорення.....	19
Висновки.....	40
Література.....	41

ВСТУП

Ґрунт – це природний ресурс із величезним біорізноманіттям, що містить безліч живих організмів, які відрізняються за видами та функціями. Ці організми та їх взаємодія відіграють вирішальну роль у підтриманні важливих функцій ґрунту: розкладання органічних речовин, обмін поживними елементами, формування структури ґрунту, розщеплення мінералів, фіксування азоту, боротьба зі шкідниками та очищення від забруднювачів за допомогою біоремедіації. Водночас реакція ґрунтових організмів на вплив людської діяльності є різною: деякі організми отримують нові властивості через пристосування до нових умов, а інші зникають назавжди через надмірний антропогенний тиск [11, 26, 33, 47].

Урбанізація й антропогенна діяльність значно змінюють склад, структуру і властивості ґрунтів, особливо в міських зонах, де їхні шари часто змішуються або замінюються привезеними ґрунтами. Це призводить до змін фізичних та хімічних характеристик ґрунту, що впливає на здатність підтримувати життя мікроорганізмів. Міські ґрунти мають підвищену щільність, що обмежує доступ кисню, води та поживних речовин, необхідних для мікробних спільнот, створюючи умови для зростання анаеробних бактерій, але значно знижуючи загальну чисельність і активність мікроорганізмів. Урбанізація негативно позначається на біорізноманітті наземних екосистем, де впливи людської діяльності варіюються за типом, інтенсивністю та масштабом. Останніми десятиліттями активно досліджувались впливи сільського господарства, гірничих робіт, забруднення важкими металами та кліматичних змін на структуру й функціонування екосистем. Хоча початково фокус був на рослинах і тваринах, мікроорганізми стали привертати більшу увагу, як ключові рушії екосистемних процесів. Незважаючи на зростання інтересу до мікробіомів і їхньої реакції на людські порушення, вплив урбанізації на мікробні спільноти залишається недостатньо дослідженим [38, 47].

Важкі метали є одними з найпоширеніших забруднювачів ґрунту в усьому світі, їх присутність зареєстрована в 60% забруднених земель. Вміст важких металів у довкіллі вищих за природні створює ризики для середовища через їх токсичність [11]. Останні роки, у зв'язку із масштабними воєнними діями на території України, забруднення середовища збільшилось через вогнища, що вивільняють велику кількість важких металів у навколишнє середовище [7]. За даними Національного центру Інституту ґрунтознавства і агрохімії НААНУ, на 2019 рік, близько 20% ґрунтів території України зазнали забруднення важкими металами. Найрозповсюдженіші – свинець, кадмій, цинк, мідь, мангану, нікель, залізо, хром [4, 5]. У зв'язку зі збільшенням рівня антропогенного забруднення в природних та урбаністичних екосистемах, вивчення впливу важких металів (ВМ) на розвиток і колонізувальні властивості ґрунтових мікроорганізмів є актуальним. Особливо важливо вивчати це питання, оскільки ВМ вважаються серйозними забруднювачами, що можуть залишати довгостроковий слід у ґрунті та впливати на його біологічну активність, що негативно вплине й на рослини. Вивчення того, як важкі метали впливають на різноманітність, функції та взаємодію мікроорганізмів у ґрунті, має важливе значення для розробки стратегій управління ґрунтовим ресурсом та збереження біорізноманіття. У зв'язку з викладеним, метою роботи було на основі даних про окремі ростові та біохімічні показники газонної трави оцінити роль бактерій у розвитку рослин за присутності важких металів у ґрунті. Для досягнення мети були поставлені та вирішені такі завдання:

- вивчити вплив важких металів на чисельність ґрунтових бактерій в умовах росту на поживних середовищах;
- оцінити вплив важких металів і бактеризації на схожість насіння травосуміші;
- визначити вплив важких металів і бактеризації на окремі ростові та фізіолого-біохімічні показники рослин;
- проаналізувати колонізувальні властивості ґрунтових бактерій.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Бактерії у складі мікрофлори урбаноземів

Ґрунт – середовище існування, що містить в собі представників усіх трьох доменів життя (бактерії, археї, еукаріоти), кожен організм є унікальним за своєю екологічною стратегією існування та метаболічними шляхами. Мікроорганізми займають важливе місце у розкладанні та трансформації органічних речовин, використовуючи аеробні та анаеробні реакції, в яких задіяно приблизно 90% енергетичного потоку ґрунту. Енергетичний потік ґрунту є ключовим процесом у регулюванні біогеохімічних циклів і підтримці продуктивності екосистем. В залежності від природи перебування у ґрунті, мікроорганізми поділяються на автохтонні, що постійно мешкають у ґрунті та сприяють біохімічним перетворенням, і алохтонні, які потрапляють до ґрунту з органічними добривами, рослинними залишками, або через контамінацію стічними водами [11, 24, 40].

Урбанізація та інтенсивне сільське господарство суттєво впливають на біорізноманітність ґрунтів, змінюючи видовий склад, чисельність та функціонування ґрунтових мікроорганізмів, особливо бактерій. Дослідження показують, що міські ґрунти мають значне мікробне різноманіття та містять види, які зазнають суттєвих змін через антропогенний вплив та розвивають механізми адаптації для виживання в змінених умовах [15, 20, 23].

Внаслідок антропогенної діяльності також порушується структура ґрунту, що негативно позначається на його стабільності та підвищує ризик виникнення пилу, сприяючи деградації ґрунтових екосистем. Це виражено зниженням водоутримувальної здатності ґрунту, що ускладнює доступ мікроорганізмів до необхідної вологи і поживних речовин, погіршується аерація та знижується рівень вологості, що призводить до зменшення кількості мікроорганізмів, особливо аеробних бактерій. Пиліві частки можуть переносити забруднювачі – важкі метали, хімічні сполуки, що, потрапляючи на поверхню ґрунту, накопичуються і пригнічують ріст та активність мікроорганізмів [44]. Відомо, що біодеградація відіграє важливу

роль у нейтралізації забруднювачів, де мікроорганізми виступають основними агентами завдяки своїй екологічній пристосованості та наявності широкого спектру ферментів, що здатні розкласти різні сполуки [30]. Мікроорганізми відіграють важливу роль у циклах вуглецю, азоту, фосфору та сірки, беручи участь у їхньому кругообігу. Наприклад, азотофіксуючі бактерії (група *Rhizobium*, *Azotobacter*) перетворюють атмосферний азот у форми, доступні для рослин, що підвищує родючість ґрунтів, особливо тих, де добрива є обмеженими. Деякі представники виділяють речовини, що скріплюють частинки ґрунту, створюючи стабільну структуру, яка поліпшує його властивості. Бактерії, зокрема *Pseudomonas* та *Bacillus*, синтезують фітогормони, що сприяють росту рослин, підвищують їхню стійкість до патогенів і покращують засвоєння поживних речовин. Це також допомагає рослинам краще адаптуватися до стресових умов [24, 30].

Дослідження складу мікробіому різних типів ґрунтів показують, що основними домінуючими таксонами у світі є *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Bacteroidetes*, *Planctomycetes*, *Patescibacteria*, та *Chloroflexi*, які разом складають переважну частину бактеріальної спільноти ґрунту – понад 90% від загального мікробного складу ґрунтів. Ці групи складають ядро ґрунтових мікробних спільнот і демонструють високу адаптацію до різноманітних екологічних умов, включно з урбанізованими територіями [8, 9, 16, 25]. *Proteobacteria* займають найбільшу частку в ґрунтових спільнотах (до 30,2%) та представлені численними родами, такими як *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, які відомі своєю здатністю фіксувати азот, сприяти росту рослин і, в деяких випадках, підвищувати стійкість ґрунтів до забруднювачів, зокрема важких металів. *Pseudomonas*, зокрема, часто зустрічаються в ґрунтах, забруднених металами, і проявляють високу стійкість до токсичних речовин завдяки своїй адаптивності [8, 16, 40]. Серед видів протеобактерій, за даними різних досліджень види *Pseudomonas* і *Enterobacter* можуть виступати збудниками кишкових хвороб. Але в харчовій ґрунтовій мережі ці бактерії є

антагоністами корневих патогенів рослин, а також стимуляторами росту рослин [44]. *Acidobacteria* (близько 20,7%) поширені в різноманітних екосистемах і добре пристосовані до кислотних умов ґрунту. Ця група відіграє важливу роль у розкладанні органічної речовини та стабілізації ґрунтових структур. *Acidobacteria* містять численних представників родів *Granulicella*, *Terriglobus* та *Acidobacterium*, що здатні розщеплювати різні типи органічних сполук та відіграють значну роль у процесах вуглецевого циклу [8, 16, 25, 40]. *Actinobacteria* (6–12,6%) – ще одна велика група мікроорганізмів, що істотно поширена у ґрунтах. Вони представлені родами *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, які відомі своєю здатністю продукувати антибіотики та розкладати складні органічні речовини, такі як целюлоза і лігнін. Завдяки цим властивостям *Actinobacteria* беруть участь у формуванні ґрунтової органічної речовини та сприяють утворенню гумусу [8, 9, 25, 40, 45]. *Verrucomicrobia* (до 11%) також є важливим компонентом ґрунтового мікробіому. Представники цього типу – *Opitutus* та *Verrucomicrobium* значно поширені у ґрунтах і відіграють роль у розкладанні органічних речовин, зокрема таких, що є важкодоступними для інших бактерій. Вони характеризуються низькими вимогами до поживних речовин і можуть виживати в умовах обмеженого живлення [8, 9, 40, 45]. *Bacteroidetes* (близько 17,2%) зустрічаються не лише у ґрунті, а й у водних екосистемах. До цієї групи входять роди *Flavobacterium*, *Sphingobacterium*, *Chitinophaga*, що спеціалізуються на розкладанні органічних полімерів. *Bacteroidetes* часто пов'язані з розкладанням складних органічних сполук і, таким чином, сприяють кругообігу вуглецю та інших елементів у ґрунті [9, 40, 45]. Окрім цих основних груп, у ґрунтах також виявлено інші таксони – *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Saccharibacteria*, *Parcubacteria*, *Planctomycetes* та *Cyanobacteria*. *Chloroflexi* (4–7,1%) та *Gemmatimonadetes* – вони є важливими учасниками ґрунтового кругообігу поживних речовин і стійкими до умов низької вологості. *Nitrospirae* та *Planctomycetes* виконують функції нітрифікації та анаеробної амоніфікації, що сприяє азотному циклу ґрунтів.

Суанобактерія частіше зустрічаються в умовах зволжених ґрунтів і здійснюють фотосинтез, збагачуючи ґрунти органічними сполуками [8, 9].

В літературі переважають дані щодо мікроорганізмів агроценозів та їх впливу на ріст і продуктивність сільськогосподарських рослин. Але мікроорганізми у ґрунтах міських територій відіграють не менш важливу роль у розвитку і функціонуванні урбанічних екосистем. На прикладі аналізу домінуючих мікроорганізмів у ґрунтах Центрального парку Нью-Йорку, було показано подібність біорізноманітності ґрунтів місцевих до глобальних. З 2497 філотипів 94,7% були спільними для ґрунтів Центрального парку та глобальних зразків, тоді як 1,3% зустрічалися виключно в Центральному парку, а 4,0% — лише в інших світових ґрунтах [40]. Дослідження також показують, що ґрунти міських територій, таких як парки та зелені зони, мають вищий рівень біорізноманітності, ніж житлові райони. У таких місцях домінують змішані бактеріальні угруповання, а рівень різноманітності за індексом Шеннона виявляється вищим у ґрунтах біля доріг, що може бути обумовлено різноманітністю умов середовища та наявністю забруднень, що сприяють розвитку адаптивних механізмів у мікроорганізмів [8, 9, 40].

Отже, бактерії філ *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* та *Bacteroidetes* є домінуючими таксонами в ґрунтах різних типів і виконують ключові функції в екосистемі, сприяючи кругообігу поживних речовин, підтриманню ґрунтової структури та очищенню від забруднень. Їхня присутність у ґрунтах усього світу свідчить про значний рівень адаптації до різноманітних екологічних умов [8, 40, 45].

1.2. Розвиток стійкості бактеріальної урбанофлори до дії важких металів

Урбанізація та індустріалізація сприяють збільшенню концентрації важких металів у ґрунтах. Цими металами є свинець, кадмій, ртуть та інші токсичні елементи. Вони можуть пригнічувати життєдіяльність бактерій і змінювати їхню різноманітність та функції. Важкі метали можуть викликати суттєві зміни у складі мікробіому, зокрема через порушення обмінних

процесів, зміну здатності мікроорганізмів до колонізації та зменшення їхньої участі у важливих екосистемних функціях. Численні дослідження показують, що вплив важких металів на мікроорганізми ґрунту може варіювати залежно від типу металу, його концентрації, тривалості впливу. Деякі бактерії розвивають стійкість до таких умов, проте загалом існує тенденція до зменшення різноманіття мікробних спільнот [8, 32, 46].

Через існування низки потенційних джерел забруднення, саме міські ґрунти частіше збагачені іонами металів. Важкі метали визначаються як метали та металоїди з атомним номером від 20 і більше, і густиною більше 5 г/см³. Окрім місткості важких металів внаслідок антропогенного впливу вони також природно присутні в екосистемах як «мікроелементи», оскільки їх можуть містити й виділяти мінерали та породи через ерозію і розчинення у воді. Деякі важкі метали: цинк (Zn), залізо (Fe), мідь (Cu) і нікель (Ni), є важливими мікроелементами для рослин і мікроорганізмів. Ртуть (Hg), арсен (As), свинець (Pb) та кадмій (Cd), не є необхідними для організмів і можуть стати токсичними у високих концентраціях. На відміну від органічних речовин, вони не піддаються біологічному розкладанню [11, 13, 17].

Слід зауважити, що токсичність та інші властивості металів залежать від складу ґрунту: концентрації іонів, хімічних форм металів, їх розчинності, рН, температури, фракційного складу та органічних речовин у ґрунті. Навіть у невеликих концентраціях метали можуть накопичуватись у мікроорганізмах, пошкоджуючи клітинні структури, порушуючи метаболізм та спричиняючи денатурацію білків, ДНК та інших молекул [8].

Основними механізмами для протидії токсичному впливу важких металів є біoadсорбція та біоаккумуляція. Біoadсорбція є пасивним процес, який не залежить від метаболізму клітини. У цьому випадку катіони важких металів прикріплюються до клітинної поверхні, оскільки клітинна мембрана має негативний заряд завдяки аніонним функціональним групам. Це призводить до зв'язування металів на поверхні, що обмежує їхнє проникнення всередину клітини та знижує токсичність. Завдяки цьому

мікроорганізми можуть ефективніше захищати себе і навколишні рослини від шкідливих впливів важких металів [29]. Біоаккумуляція – активний процес, що залежить від метаболічної активності клітини і вимагає спеціальних мембранних транспортерів для проникнення металів. У цьому процесі мікроорганізми синтезують хелатні сполуки, такі як біосурфактанти та органічні кислоти, які зв'язують катіони металів і сприяють їхній іммобілізації всередині клітини. Це забезпечує додатковий захист від токсичної дії металів. Крім того, мікроорганізми виробляють сидерофори – хелатуючі агенти, які зв'язують і транспортують форму заліза, важливу для метаболізму рослин і мікроорганізмів. У ґрунтах із дефіцитом заліза сидерофори підвищують його біодоступність, що сприяє зростанню рослин [37].

Одним із механізмів опору негативній дії важких металів, є хімічна взаємодія між бактеріями та рослиною, в якій беруть участь вторинні метаболіти та різні складні процеси. Деякі види бактерій можуть активно виводити токсичні метали з клітини, використовуючи АТФази та іонні насоси. Гени, що відповідають за ці механізми біовиключення, зазвичай заковані в плазмідах [39]. Деякі мікроорганізми використовують екзополісахариди (EPS) для захисту від токсичної дії важких металів. Наприклад, у *Rhizobium radiobacter* і *Acinetobacter junii* EPS сприяють біоадсорбції, формуючи захисний шар на поверхні клітин, який утримує іони металів зовні. Цей процес створює своєрідну матрицю, що затримує метали та запобігає їх проникненню в клітину [11]. *Providencia vermicola* і *Pseudomonas fluorescens* виробляють металотіонеїни – білки, що зв'язують іони металів у цитоплазмі клітини. Це дозволяє секвеструвати токсичні метали у менш реакційні комплекси, знижуючи їхню здатність завдавати шкоди внутрішньоклітинним структурам. Металотіонеїни відіграють ключову роль у внутрішньоклітинній детоксикації, зв'язуючи важкі метали й обмежуючи їхній доступ до чутливих біомолекул [10]. Також бактерії можуть змінювати вплив важких металів через процеси окислення-

відновлення та метилування, що впливає на розчинність у ґрунті і перетворює на менш токсичні форми, метилування також іноді сприяє утворенню більш летких форм [14, 19]. У бактерій *Comamonas testosteroni* і *Ralstonia metallidurans* є плазмідні та хромосомні гени, які кодують транспортери для виведення іонів важких металів, таких як свинець і кадмій. Цей механізм знижує внутрішньоклітинну концентрацію металів, зменшуючи їхній токсичний вплив.

Відомо, що важкі метали заважають поглинанню необхідних поживних елементів через конкуренцію з їх транспортними системами, внаслідок виникає дефіцит мікроелементів. Наприклад, іони Cr^{3+} і Cr^{5+} можуть перешкоджати поглинанню Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, а Cd, Ni та Pb можуть замінювати Zn в ферментах, що беруть участь у синтезі хлорофілу, що знижує рівень фотосинтезу. Таким чином важкі метали конкурують з необхідними елементами за «активні місця» на мембранах клітин. Порушення іонного балансу викликає осмотичні проблеми. Наприклад, забруднення Zn і Pb може порушити водний баланс рослин. Надмірна кількість навіть необхідних елементів, таких як Ni, також може викликати токсичні ефекти [11].

Деякі метали, наприклад, Cu, Zn, Ni та Fe, виконують роль важливих кофакторів для ферментів, що беруть участь у ключових метаболічних процесах, зокрема метаногенезі, окисленні аміаку та денітрифікації. У ґрунті рівень рН і окисно-відновний потенціал є основними факторами, які впливають на розчинність цих металів. За низької доступності метали можуть обмежувати розвиток організмів, тоді як їхній надлишок призводить до токсичних ефектів. Передбачається, що мікроорганізми в міських умовах мають більше генів стійкості до важких металів, що допомагає їм адаптуватися до підвищеної токсичності середовища [17].

Таким чином, хоча адаптаційні механізми мікроорганізмів, дозволяють частково протистояти токсичному впливу важких металів, їхня ефективність є обмеженою. Накопичення токсичних елементів у ґрунтах унаслідок

антропогенної діяльності призводить до зниження біорізноманіття, що послаблює здатність екосистем виконувати важливі функції, такі як розкладання органічної речовини та підтримка родючості ґрунту. Для збереження здоров'я екосистем важливо враховувати складні впливи важких металів і розробляти екологічні підходи, які сприятимуть відновленню ґрунтів, стабільності мікробіому та забезпеченню екологічної рівноваги.

1.3. Функціонування системи рослина-мікроорганізми за дії важких металів

Ризосфера – це зона ґрунту, яка прилягає до кореневої системи рослин, є місцем активної взаємодії між рослинним організмом та мікроорганізмом. До мікроорганізмів ризосфери належать: бактерії, гриби та актиноміцети. Мікробіом ґрунту є надзвичайно багатим на біомасу та різноманітність мікроорганізмів, що робить його потенційним резервуаром корисних елементів та функцій для рослин, особливо в умовах стресів, викликаних важкими металами [43].

Перевагою мікроорганізмів є їх невеликі розміри та здатність до швидкого розмноження, що дозволяє прокаріотам швидко адаптуватися до змін. Кореневі екsudати рослин сигналізують, які саме мікроелементи потрібні та стимулюють певні популяції до активного росту і розвитку. Таким чином мікроорганізми підтримують зв'язок з рослинами і розвивають синергетичні зв'язки, які впливають на функції та продуктивність рослин [10]. Але під час активної дії стресових факторів відбувається зниження біорізноманітності мікроорганізмів. Таксономічний склад бактеріальних спільнот змінюється внаслідок переваги організмів, які краще адаптувалися до нових умов. Скорочення різноманітності та функціональності піддає неадаптовані мікроорганізми до подальших екологічних змін, що має негативні наслідки на стійкість екосистем. Наслідком дисбалансу ґрунтових мікроорганізмів є дефіцит поживних речовин та зміна фізико-хімічні властивостей призводить до зниження якості та родючості ґрунту. У міських

грунтах, де концентрація антропогенних стресорів особливо висока, ці зміни можуть мати тривалі наслідки для підтримки екосистемних процесів та здоров'я ґрунтів, негативно впливати на розвиток біомаси рослин [16, 36, 46].

Як відомо, збагачений мікроорганізмами ґрунт є ефективним у використанні поживних речовин, обміні речовинами із рослинами, таким чином підвищуючи врожайність сільськогосподарських культур. Мікроорганізми, що пристосовані до дії стресових факторів можуть допомогти рослинам вистояти стрес і покращити ріст і продуктивність, завдяки перетворенню важких металалів у менш токсичні форми [10, 11, 12]. Не всі важкі метали в ґрунті легко засвоюються організмами. Вміст металів у тканинах рослин значною мірою визначається саме біодоступними формами металів, а не їх загальною концентрацією в ґрунті. Властивості ґрунту – рівень рН, текстура та кількість органічної речовини, можуть впливати на рухливість і доступність цих металів. Високий вміст заліза, цинку та марганцю призводить до зменшення гумусу в ґрунті. Ці елементи мають здатність накопичуватися в гумусовому шарі, впливаючи на врожайність провокуючи хлороз, що спричиняє дефіцит заліза [6].

Існують рослини, які здатні накопичувати важкі метали. Наприклад у *Sedum alfredii*, кореневі виділення підвищують рН ґрунту, що сприяє мобілізації металів і детоксикації бактеріями, в цей час у ризосфері підвищена ферментативна активність. Такі рослини мають властивість створювати середовище в ризосфері з мікробіотою підвищеної активності, що підтримує їх стійкість до стресів. Таке середовище також збільшує якість ґрунту поза межами ризосфери [38]. На прикладі кукурудзи (*Zea mays*), що вирощували на ґрунтах, забруднених важкими металами, продемонстровано підвищення оксидативного стресу в рослинах. Це проявляється збільшенням кількості перекису водню (H_2O_2), малонового діальдегіду та антоціанінів у листках. На таких самих ділянках, але за допустимих концентрацій металів, у кукурудзи ознаки оксидативного стресу були менш вираженими. Хоча в рослинах все одно накопичувалося більше важких металів – кадмію і цинку.

Ці дані вказують на важливу роль автохтонної мікрофлори, яка впливає на фізіологічний стан рослин. За таких умов одні мікроорганізми можуть конкурувати з рослинами за поживні речовини, що в результаті знижує ріст кукурудзи та її здатність до фотосинтезу [42]. В цілому, важкі метали негативно впливають на фотосинтез рослин, але ця дія може бути частково компенсована іншими мікроорганізмами, що зменшують токсичність та допомагають рослинам адаптуватися до забрудненого середовища [42].

Таким чином, взаємодія рослин і мікроорганізмів відіграє ключову роль в адаптації до середовища, забрудненого важкими металами, і, отже, має бути детально досліджена з метою практичного використання – наприклад, задля вдосконалення методів біоремедіації.

2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження було виконано на кафедрі фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. В роботі використовували культури бактерій з колекції кафедри: *Azotobacter* sp., *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus cereus*. Бактерії культивували у пробірках на твердих поживних середовищах м'ясо-пептонний агар (МПА) і манітно-дріжджовий агар (МДА) у термостаті за температури 28-30°C. Для досліду було використано комерційну суміш насіння газонної трави: костриця червона (*Festuca rubra* L.) – 10%, райграс пасовищний багаторічний (*Lolium perenne* L.) – 55%, костриця очеретяна (*F. arundinacea* Schreber) – 5%, райграс однорічний (*L. multiflorum* Lam.) – 25%.

Етапи експерименту

- I. Вивчення впливу важких металів (ВМ) на ріст ґрунтових бактерій на поживному середовищі.
- II. Постановка вегетаційного досліду з вивчення впливу бактеризації насіння травосуміші на ріст і розвиток рослин за присутності ВМ у ґрунті.

Визначення чисельності бактерій за росту в присутності важких металів у середовищі

До розплавлених середовищ додавали стерильний розчин ХЧ сульфату свинцю ($PbSO_4$) і сульфату цинку ($ZnSO_4$), виходячи з розрахунків, що у кожній чашці Петрі була концентрація металів, що у 5 раз перевищує ГДК цих металів у ґрунті. Контролем слугували поживні середовища із додаванням такого ж об'єму стерильної дистильованої води. Агарові пластинки засівали добовими бактеріальними суспензіями – концентрація клітин 10^5 КУО/мл. Засіяні чашки Петрі поміщали до термостату за температури 28-30°C і протягом 4-х діб здійснювали підрахунок колоній, що виросли.

Веgetаційний дослід

Для інокуляції насіння готували 1–3–добові бактеріальні суспензії у стерильній водогінній воді, доводячи чисельність бактерій до 10^6 КУО/мл.

Простерилізоване у 70% етиловому спирті протягом 15 хв та відміте у стерильній водогінній воді насіння газонної трави бактеризували протягом 30 хв сумішшю бактеріальних суспензій (змішували однаковий об'єм суспензій кожного виду бактерій чисельності 10^6 КУО/мл). В якості контролю використовували насіння, замочене на цей же час у стерильній водогінній воді. Інокульоване насіння (по 60 шт. на кожен горщик зі 150 г ґрунту) висіювали у простерилізований автоклавуванням ґрунт. Для варіантів дослідів із ВМ використовували ХЧ сульфат свинцю (PbSO_4) і сульфат цинку (ZnSO_4). По 1 мл розчинів металів (із розрахунку 10 моль/л для свинцю і 90 моль/л для цинку) додавали безпосередньо у ґрунт горщика відповідного варіанту дослідів. Засіяні ємності поміщали у вегетаційну камеру за освітлення 2 клк протягом 16 годин на добу, температури $+20-23^\circ\text{C}$ та регулярного зволоження ґрунту стерильною водогінною водою. Тривалість експерименту – три тижні.

Варіанти дослідів:

1. Контроль (насіння замочене у воді).
2. Бактеризоване насіння.
3. Не бактеризоване насіння, до ґрунту додавали розчин сульфату свинцю.
4. Не бактеризоване насіння, до ґрунту додавали розчин сульфату цинку.
5. Бактеризоване насіння, до ґрунту додавали розчин сульфату свинцю.
6. Бактеризоване насіння, до ґрунту додавали розчин сульфату цинку.

Методи дослідження

Схожість рослин враховувалась на 5 добу після висіву. Пророслим вважалося насіння, надземну частину якого вже можна було побачити неозброєним оком над поверхнею ґрунту. По закінченню експерименту вимірювали масу рослин, визначали вміст цукрів у листках, а також досліджували чисельність та інтенсивність розвитку бактерій у ризоплані рослин.

Визначення вмісту цукрів у листках рослин здійснювали методом Швецова і Лук'яненко, що базується на відновленні ферицианіду калію

редуючими цукрами в лужному середовищі до ферицианіду [2]. Для цього виготовляли спиртову витяжку з висушеного до постійної ваги рослинного матеріалу. Вміст цукрів оцінювали у 1см-х кюветах з використанням спектрофотометру “Ulab 102UV” (Китай) за червоного світлофільтра і довжини хвилі 670 НМ. Вміст цукрів у розчині визначали із застосуванням калібровочної кривої по глюкозі, коефіцієнт розведення 1000. Кількість олігоцукрів визначали за різницею суми цукрів і моноцукрів.

Чисельності бактерій у ризоплані рослин газонної трави здійснювали методом Коха [3] з використанням поживних середовищ МПА і МДА за формулою:

$$КУО=Vn \times P, \text{ де}$$

n — кількість колоній, що вирости на чашці Петрі;

P — розведення зразка, яке використовувалося під час висівання;

V — об'єм зразка, що був висіяний, мл.

Для оцінки інтенсивності колонізації коренів використаними штамми ґрунтових бактерій, виготовляли роздавлені фарбовані препарати корінців газонної трави. Для цього обережно відмиті корінці поміщали на предметне скло і фарбували метиленовим синім за такою технікою: метиленовий синій витримували 30 секунд, додавали етиловий спирт на 20 секунд і потім змивали водою. Підраховували кількість ділянок корінців, вкритих бактеріями в межах одного поля зору. На кожному препараті аналізували по 10 полів зору. Колонізацію оцінювати у балах (від 1 до 5).

Дослідження проводили у трикратній повторності. У таблицях та на рисунках представлені результати обчислення за допомогою програми “Excel” (Microsoft, США) середніх значень вимірювань та їх стандартні помилки (SE). Середні значення порівнювали між різними варіантами досліду з використанням параметричних критеріїв (t-критерій Стьюдента) [1].

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ґрунтовий мікробом відіграє головну роль у розвитку рослини, але в містах ґрунт часто забруднений органічними забруднювачами та важкими металами, що створює стрес для рослин. Наявність важких металів може негативно впливати на мікроорганізми, що співіснують із рослинами. Важкі метали здатні пригнічувати колонізуючі властивості мікроорганізмів, що обмежує їх участь у підтримці продуктивності рослин. Різноманітність та кількість мікроорганізмів є одним із головних аспектів для росту рослини. Учасники мікробіому ризоплану і ризосфери покращують поглинання важливих елементів, захищають від патогенів, беруть участь у синтезі фітогормонів, обміні елементами, в тому числі й тих, що існують в середовищі в недоступних для рослин формах. В залежності від фази розвитку та потреб рослинного організму, склад мікробіому буде змінюватись [38, 43].

Середовищем, що об'єднує рослини і мікроорганізми є ґрунт. Саме від складу і властивостей ґрунту буде залежати ефективність взаємодії між обома блоками учасників біогеоценозу – рослинами і мікроорганізмами. На сьогодні, забруднення ґрунтів важкими металами стало наслідком майже виключно діяльності людини, зокрема через виплавку металів та спалювання викопного палива. Узбіччя доріг і промислові зони є основними ділянками такого забруднення, що накопичується протягом століть внаслідок широкого використання металів у промислових продуктах (труби, сталь, скло, фарба, акумулятори тощо). Зі зростанням токсичності ґрунту від важких металів, мікробна біомаса та її активність помітно зменшуються, що призводить до змін фізичних, хімічних і біологічних властивостей міських ґрунтів [8, 28]. За даними ЮНЕП, ВООЗ і ФАО – важкі метали випереджають інші забруднювачі та посідають перше місце за ступенем небезпеки [4]. Забруднення важкими металами внаслідок антропогенної діяльності призводять до значних змін фізичних і хімічних характеристик ґрунтів, що

порушує рівновагу мікробного співтовариства. Це негативно впливає на здатність ґрунтових мікроорганізмів підтримувати екосистемні функції, знижує їх чисельність і біорізноманіття. Підвищення концентрацій важких металів у ґрунті викликає адаптацію лише певних видів, тоді як інші гинуть, не витримуючи токсичних умов. Така деградація мікробіому ґрунту може мати серйозні наслідки для його родючості та здатності підтримувати життя, що підкреслює важливість подальших досліджень у цій галузі для збереження екосистемних процесів [4, 11].

У міських ґрунтах також відзначається підвищена стійкість мікроорганізмів до металів і накопичення металів у певних зонах. Наприклад, у рудеральних ґрунтах зростає кількість генів стійкості до нікелю, а також транспортерів для міді та цинку. Значна частина слідів металів надходить із природних джерел, але транспортні засоби створюють локальні джерела з високим вмістом Cu, Ni та Zn [11, 17]. Але автохтонні мікроорганізми, що існують на забруднених важкими металами ділянках, адаптувалися до цих умов завдяки тривалому впливу стресових факторів. Проте підвищення рівнів важких металів у ґрунті зменшує мікробну біомасу, знижує інтенсивність ґрунтового дихання та активність ферментів. Оскільки різноманітність видів сприяє стабільності екосистеми, низька функціональна надмірність зменшує кількість різних функціональних генів, що робить організми більш вразливими до високих концентрацій важких металів у середовищі [8, 16, 42]. Поки що не зовсім зрозуміло, як швидко формується стійкість бактерій до негативної дії важких металів. Також не до кінця з'ясовано, чи закріплюється ця набута стійкість до важких металів генетично, та чи успадковується вона наступними генераціями бактеріальних популяцій. За даними різних авторів, ефективними руйнівниками токсичних речовин є бактерії роду *Pseudomonas* і деякі представники *Aspergillus*. Наприклад, процес мікробної деградації пестицидів (до складу яких часто входять важкі метали) відбувається у три стадії. Спершу здійснюється трансформація пестицидів через окиснення, відновлення або гідроліз. На другій стадії

з'єднання з цукром або амінокислотою збільшує водорозчинність і знижує токсичність речовин. Завершальний етап передбачає утворення нетоксичних вторинних кон'югатів. Завдяки схожості деяких забруднювачів з природними сполуками певні види мікроорганізмів мають ферменти, що здатні їх розщепити [30]. Мікроорганізми виконують й важливі біохімічні функції, підтримуючи екологічний баланс, зокрема шляхом окислення алканів і біорозкладання пестицидів – але при цьому можуть використовувати метали в якості акцепторів електронів. Алкани піддаються термінальному та субтермінальному окисленню з утворенням спиртів, альдегідів та жирних кислот. Під час термінального окислення n-алкани перетворюються на спирти, альдегіди і далі на жирні кислоти, які потім розкладаються в циклі трикарбонових кислот до CO_2 і H_2O . Різні анаеробні бактерії розкладають вуглеводні у ґрунті, використовуючи сульфати або інші електронні акцептори, що знижує токсичність забруднювачів, підтримує екологічний баланс, сприяє обігу речовин у природі та може зменшувати навіть викиди парникових газів [30]. Також деякі бактерії (*Rhizobium radiobacter*, *Cupriavidus taiwanensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* sp. та *B. thuringiensis*) здатні адсорбувати і осаджувати важкі метали на своїх клітинних поверхнях. Цей процес обмежує рухливість металів, знижуючи їх біодоступність і токсичність, а також захищає внутрішні клітинні структури від пошкоджень. Стабілізація металів у менш розчинній формі допомагає зменшити їхній негативний вплив на рослини і навколишнє середовище в цілому [10]. Дослідження в регіонах видобутку цинку і свинцю показують суттєву негативну дію цих металів на ґрунт. Зокрема було показано, що забруднення важкими металами викликає зменшення чисельності та видового складу мікроорганізмів [42]. Тому, дослідження впливу важких металів на ґрунтові мікроорганізми і досі залишаються актуальними. На першому етапі досліджень було вивчено вплив свинцю і цинку у концентрації, що у 5 раз перевищує ГДК цих металів у ґрунті, на бактерії з колекції мікроорганізмів кафедри фізіології і біохімії рослин та

мікроорганізмів. Усі бактеріальні штами, що використовували у дослідях, були виділені з ґрунтів агроценозів, тобто, ці мікроорганізми не розвивались в умовах підвищеного вмісту важких металів.

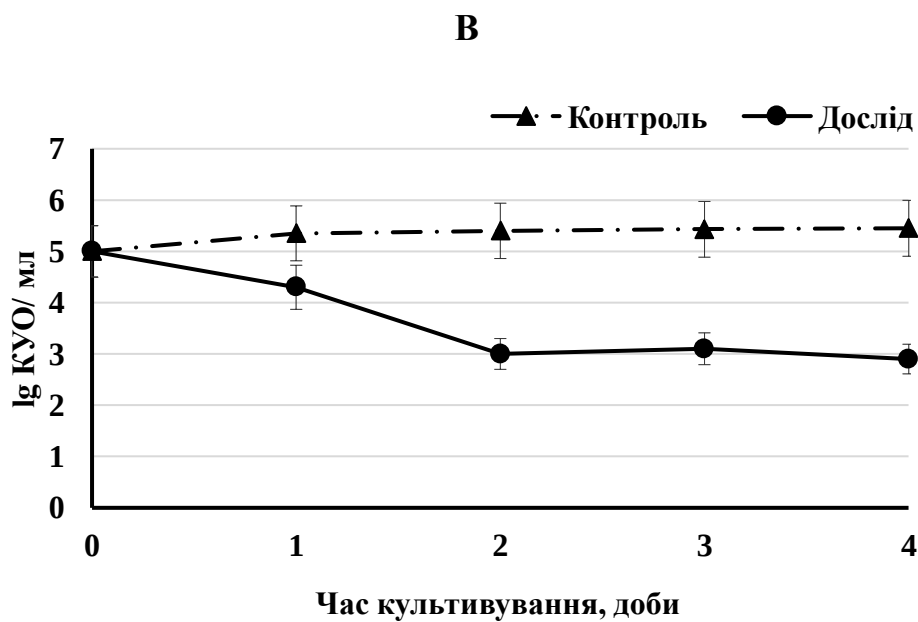
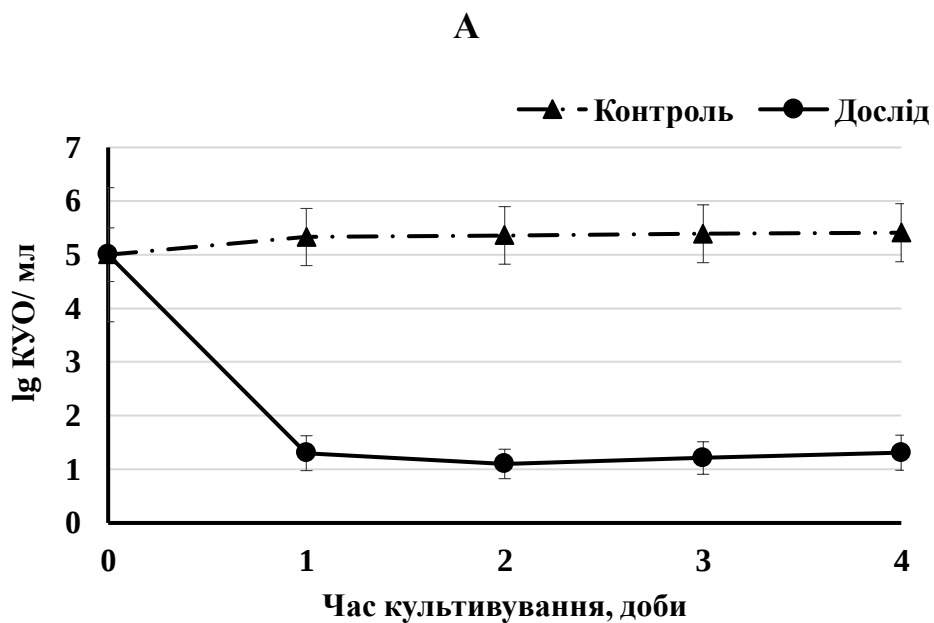


Рис. 3.1. Динаміка росту *Azotobacter sp.* за присутності свинцю (А) і цинку (В) у поживному середовищі.

У наших дослідях було використано види бактерій, що є представниками корисної мікрофлори ґрунту – діазотрофи та деструктори-

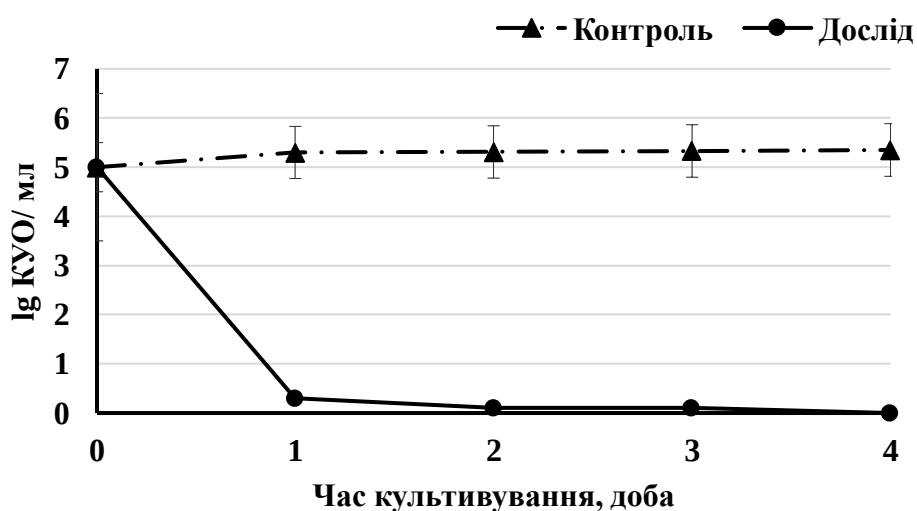
гідролітики, що проявляють рістстимулюючі властивості та володіють антифітопатогенною активністю. Причому, були використані як представники азотфіксаторів, що вільно мешкають (азотобактерії та бацили), так і види, що можуть входити до складу асоціацій на коренях злакових рослин – види *Azospirillum brasilense* і *Pseudomonas putida*.

На рисунку 3.1 представлено результати вивчення динаміки росту *Azotobacter sp.* за присутності важких металів у поживному середовищі. Аналіз динаміки росту *Azotobacter sp.* на середовищі із додаванням важких металів у вигляді солей показав, що даний штам бактерій виявився більш чутливим до присутності розчину солі свинцю – вже на першу добу культивування чисельність була істотно нижчою, порівняно з контролем (Рис. 3.1 А). Також слід зауважити, що, вірогідно, на четверту добу відбулася адаптація бактерії до умов росту в присутності металу. Число КУО/мл азотобактерій на четверту добу було дещо більшим, ніж на третю добу культивування, проте це все одно було значно нижчим, ніж чисельність у контролі. У випадку росту *Azotobacter sp.* на середовищі за присутності розчину солі цинку, мав місце певною мірою відтермінований негативний вплив – значне зниження КУО/мл бактерій відбувалося на 2-гу – 4-ту доби культивування. Через 24 години культивування за присутності металу мало місце незначне зниження чисельності клітин *Azotobacter sp.*, у порівнянні з контролем (Рис. 3.1 В).

Інший представник азотфіксувального блоку ґрунтових мікроорганізмів, асоціативна діазотрофна бактерія *Azospirillum brasilense* виявилася більш чутливою до присутності важких металів у середовищі, порівняно з *Azotobacter sp.* (Рис. 3.2). Причому, за присутності свинцю спостерігали загибель клітин – на 4-ту добу культивування на агаровій пластинці не було визначено колонії мікроорганізму (Рис. 3.2 А). В цілому ж суттєве зниження числа КУО/мл спостерігали вже через 24 години культивування, а протягом 2-ї і 3-ї діб спостерігали зниження чисельності *A. brasilense* на порядок, порівняно з першою добою. Додавання до середовища

культивування розчину сульфату цинку також пригнічувало ріст і розвиток бактерій, але меншою мірою, у порівнянні з варіантом досліду з використанням свинцю (Рис. 3.2 В). У цьому випадку істотне зниження числа КУО/мл спостерігали вже протягом 1-шої доби культивування та протягом наступних трьох діб чисельність бактерій істотно не змінювалась і трималась на рівні 10 КУО/мл.

А



В

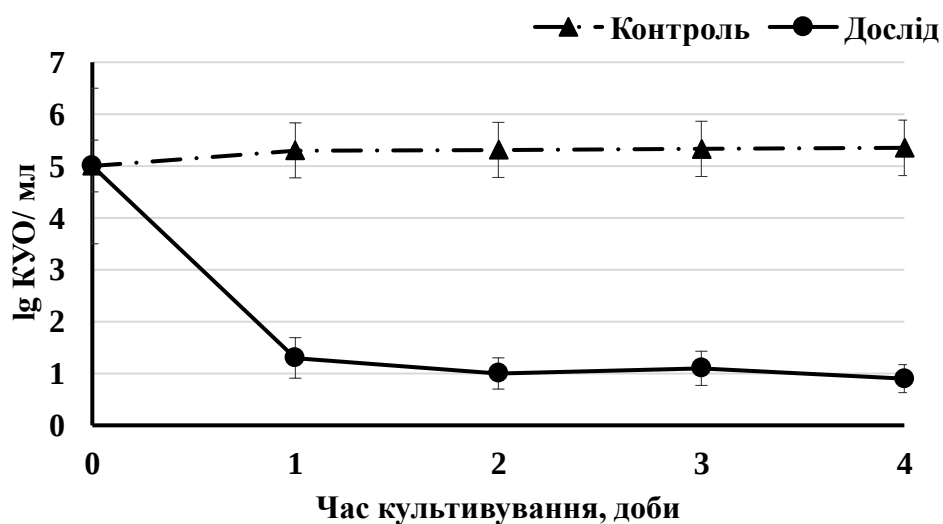


Рис. 3.2. Динаміка росту *Azospirillum brasilense* за присутності свинцю (А) і цинку (В) у поживному середовищі.

З літератури відомо, що сполуки цинку є токсичними для мікробних спільнот при високих концентраціях. Цинк не лише негативно впливає на функціональну різноманітність мікроорганізмів, а й ускладнює симбіотичні взаємодії з рослинами. Таким чином, у випадку асоціативних діазотрофів негативний вплив цинку має більш широкий прояв [41].

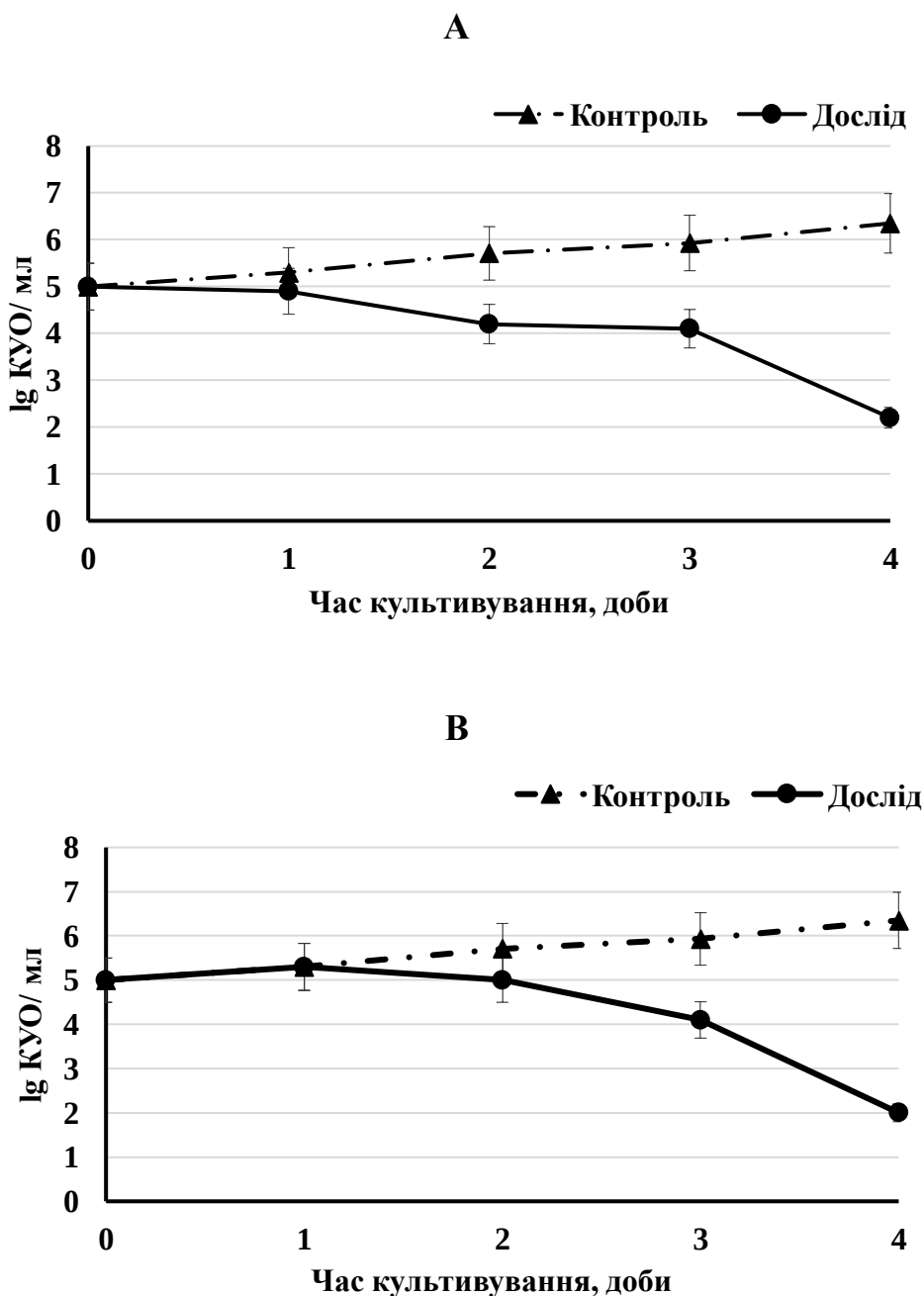


Рис. 3.3. Динаміка росту *Pseudomonas putida* за присутності свинцю (А) і цинку (В) у поживному середовищі.

Аналіз динаміки росту бактерій *Pseudomonas putida* за присутності важких металів у середовищі показав, що мало місце значуще зниження чисельності клітин бактерії у варіантах з обома металами, але, починаючи з третьої доби культивування (Рис. 3.3). У варіантах дослід з додаванням обох металів чисельність КУО/мл бактерій у першу добу культивування не відрізнявся від числа клітин у контролі. Але на другу добу вирощування, у порівнянні з контролем, чисельність клітин *P. putida* у варіанті з додаванням до поживного середовища цинку була незначуще нижчою, та істотно відрізнялась у випадку додавання свинцю (Рис. 3.3 А і 3.3 В, відповідно). Отже, в цілому, і характер кривих динаміки чисельності *P. putida* і числові показники росту для обох варіантів дослід були майже ідентичними. Тобто, на відміну від попередніх двох бактерій, псевдомонади продемонстрували меншу чутливість як до цинку, так і до свинцю.

Також для вивчення впливу надмірної концентрації цинку і свинцю на ріст ґрунтових мікроорганізмів, було використано представника спороутворювальних бактерій – *Bacillus cereus*. Загальновідомим є факт більшої стійкості спороутворювальних бактерій до різних абіотичних факторів навколишнього середовища [18]. Тому, отримані нами результати були певною мірою очікуваними (Рис. 3.4). У варіанті дослід з додаванням до поживного середовища солі свинцю спостерігали значуще зниження числа КУО/мл вже на першу добу культивування, у порівнянні як з контролем, так і з початковою концентрацією клітин. Але протягом наступного терміну культивування популяція підтримувала число КУО/мл на рівні числа на першу добу. Тобто, у порівнянні з контролем, число клітин було нижчим, але майже не змінювалось, порівняно з вихідною чисельністю клітин – на рівні 10^5 КУО/мл (Рис. 3.4 А). Цинк, як і у випадку використання інших бактерій, виявився менш токсичним і для бацил. Причому, значущі відмінності числа КУО/мл спостерігали тільки на третю і четверту доби культивування (Рис. 3.4 В).

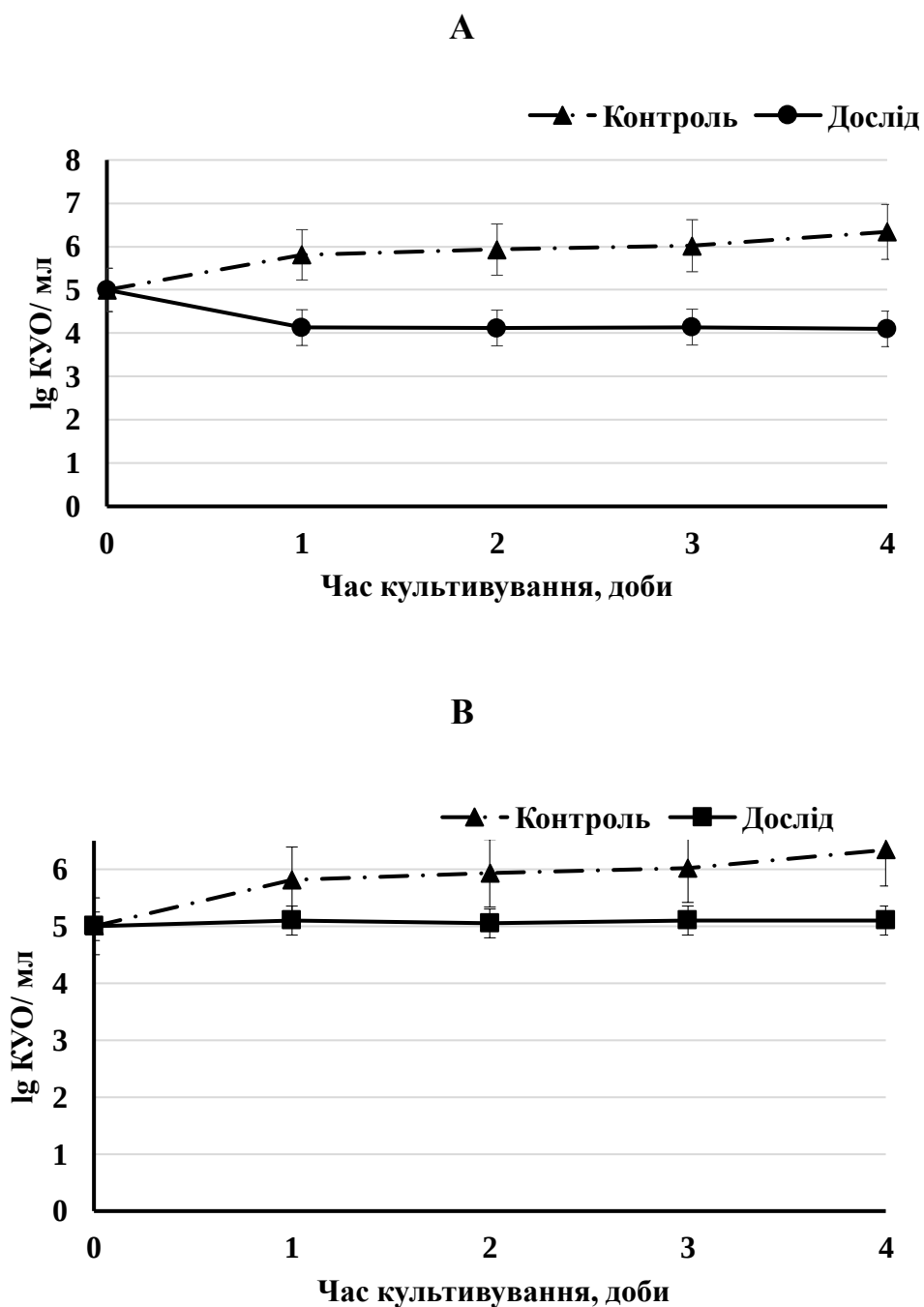


Рис. 3.4. Динаміка росту *Bacillus cereus* за присутності свинцю (А) і цинку (В) у поживному середовищі.

Отже, за результатами нашого дослідження, додавання цинку у вигляді сульфату до середовища культивування бактерій, меншою мірою впливало на чисельність *Azotobacter sp.* і *A. brasilense* протягом чотирьох діб культивування. У варіантах дослід з *P. putida* і *B. cereus* різниця між характером росту бактерій за присутності обох металів була менш помітною.

Висока токсичність цинку для ґрунтових бактерій була продемонстрована у публікаціях інших авторів. Але у дослідях інших авторів було використано переважно іншу форму цинку – оксид металу (ZnO_2). Відомо, що сполуки відрізняються між собою за властивостями, але головним активним елементом є цинк, саме його вплив на ґрунтові екосистеми є ключовим. ZnO_2 зазвичай існує як наночастинка, оксид менш розчинний у воді, що обмежує його доступність для організмів, у порівнянні з добре розчинним ZnSO_4 . Отже, вплив ZnSO_4 є пришвидшеним і більш помітним через легше вивільнення іонів цинку в ґрунт, але при короткочасному впливі на мікроорганізми. Проте ZnO_2 у вигляді наночастинки може триваліше зберігатися в ґрунті і чинити вплив на бактеріальні угруповання поступово [41]. До того ж, відомий ефект більшої реакційності речовин саме у формі наночастки. Можливо, з цим і пов'язані деякі відмінності наших даних і результатів, представлених іншими авторами.

Токсичність різних концентрацій свинцю для представників мікробіому ґрунту була продемонстрована багатьма авторами. Природні мікробні штами, включаючи бактерії, використовують різні захисні механізми, щоб виживати при дуже високих рівнях свинцю без будь-якого впливу на їх зростання та метаболізм. Різні стратегії, за допомогою яких вони протистоять високим концентраціям свинцю, включають механізми відтоку, позаклітинну секвестрацію, біосорбцію, осадження, зміну морфології клітин, підвищену продукцію сидерофорів та внутрішньоклітинну біоаккумуляцію [35]. Наприклад, для *B. cereus* було встановлено ефект біосорбції свинцю з використанням клітиною металотіонеїнів, з якими зв'язувались іони свинцю [34]. Можливо, подібний механізм використали клітини й штаму, що був використаний у нашому досліді. При цьому мало місце зниження швидкості росту через незначне гальмування метаболічних процесів, більше ресурсів клітини використовували на підтримку популяції – при цьому спостерігалася відсутність значущої зміни КУО/мл. Також можливо, біосорбції підлягали також й іони цинку. Тому ми спостерігали подібну динаміку росту

баткеріальної культури *B. cereus* на середовищі з додаванням сульфату цинку.

Відомо, що ризосфера і ризоплан – це мікросередовища, де відбувається інтенсивний хімічний діалог між рослинами та мікроорганізмами. Організми співіснують та розвивають синергічні дії, які можуть сприяти функціонуванню та продуктивності рослин, а також їх здатності реагувати на стресові умови, включаючи забруднення важкими металами. Якщо важкі метали присутні у ґрунтах, то через харчові ланцюги можуть потрапляти до консументів найвищого порядку. Багато видів бактерій мають захисні механізми для опору важким металам і за допомогою різних складних процесів, що також може покращувати й реакцію рослин на стрес, яким є присутність важких металів. Синергетичні взаємодії бактерій та рослин у ризосфері, як гомеостатична реакція екосистеми на стресові порушення, поширені у ґрунті. Поліпшення знань щодо складних взаємодій, опосередкованих рослинними ексудатами та вторинними метаболітами, може привести до природних рішень для здоров'я рослин у ґрунтах, забруднених металами [11].

Дослідження ефектів міграції важких металів по харчовим ланцюгам є актуальними не тільки для агроценозів, а й для інших біогеоценозів. У зв'язку з цим, наступним завданням було дослідження особливостей росту і розвитку рослин газонної травосуміші за умов штучної бактеризації та присутності важких металів у ґрунті.

Результати вивчення впливу важких металів – сульфату свинцю та сульфату цинку на схожість насіння газонної травосуміші, представлені в таблиці 3.1. Аналіз отриманих результатів показав, що за будь-якого варіанту досліду мало місце зниження схожості насіння, порівняно з контролем. Причому, максимально негативний результат було встановлено у варіанті з бактеризацією та проростання насіння за відсутності металу у ґрунті, а мінімально негативний ефект спостерігали у варіанті досліду із додаванням розчину $ZnSO_4$ до ґрунту та бактеризацією насіння (92,5% від контролю). В

цілому ж, найменший показник схожості у варіанті з бактеризацією (72,5% від контролю) виявився у 1,3 рази нижчим за схожість бактеризованого насіння та додавання цинку (Табл. 3.1). У варіантах досліду із додаванням свинцю та комбінації свинець + бактеризація насіння, схожість була однаковою – 87,5%. Це може свідчити про те, що вплив $PbSO_4$ і бактерій взаємно компенсується, або не відбувається синергізму негативного впливу. Використання цинку також негативно впливає на схожість, знижуючи її до 85%. Зауважимо, що у випадку комбінованого використання сульфат цинку та бактеризації, схожість зростала до 92,5% (Табл. 3.1). Це може свідчити про певний позитивний вплив бактеризації – саме бактерії сприяли зменшенню токсичного впливу цинку. Отже, важкі метали у вигляді розчинів $PbSO_4$ і $ZnSO_4$ та за умов додавання їх до ґрунту, в якому проростало насіння, загалом знижували схожість газонної травосуміші. Використання бактеризації насіння може частково нівелювати токсичну дію металу, як, наприклад, у варіанті з цинком, де спостерігалось підвищення схожості, порівняно з іншими варіантами досліду.

Таблиця 3.1.

Вплив важких металів і бактеризації на схожість насіння газонної трави

Варіант досліду	Схожість,% від контролю
Бактеризація	72,5
BM1*	87,5
BM2**	85
BM1+ бактеризація	87,5
BM2+Бактеризація	92,5

* BM1 – свинець; **BM2 – цинк.

За даними літератури, важкі метали можуть впливати на клітинні окислювально-відновні системи, виробляючи активні форми кисню (ROS). Також має місце порушення мітохондріальної активності, що може

викликати зниження швидкості дихання в рослинних тканинах. ROS можуть викликати подальший стрес та пошкодження ДНК або інших біомолекул, що може призвести до інгібування фотосинтезу в рослинах. Більше того, важкі метали можуть заважати споживанню основних поживних речовин рослин через конкуренцію за системи поглинання. Вони можуть діяти як антагоністи інших лігандів біомолекул і можуть порушувати системи переміщення поживних речовин. Наприклад, у різних видів рослин Cr^{+3} і Cr^{+5} можуть заважати поглинанню Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, а також P і K. Також Cd, Ni та Pb можуть замінювати інші іони, наприклад, Zn, у ферментах, що беруть участь у виробництві хлорофілу та інших пігментів, знижуючи швидкість фотосинтезу. Більше того, підтримка клітинного іонного балансу є проблемою як рослин, так і мікроорганізмів, оскільки зміна споживання катіонів може викликати осмотичні проблеми. Наприклад, у рослин, що ростуть в умовах забруднення Zn та Pb, можуть відбуватися зміни водного балансу [10]. Тому наступними завданнями було вивчення впливу бактеризації на біомасу рослин та вміст цукрів у листках рослин, що росли за присутності у ґрунті важких металів.

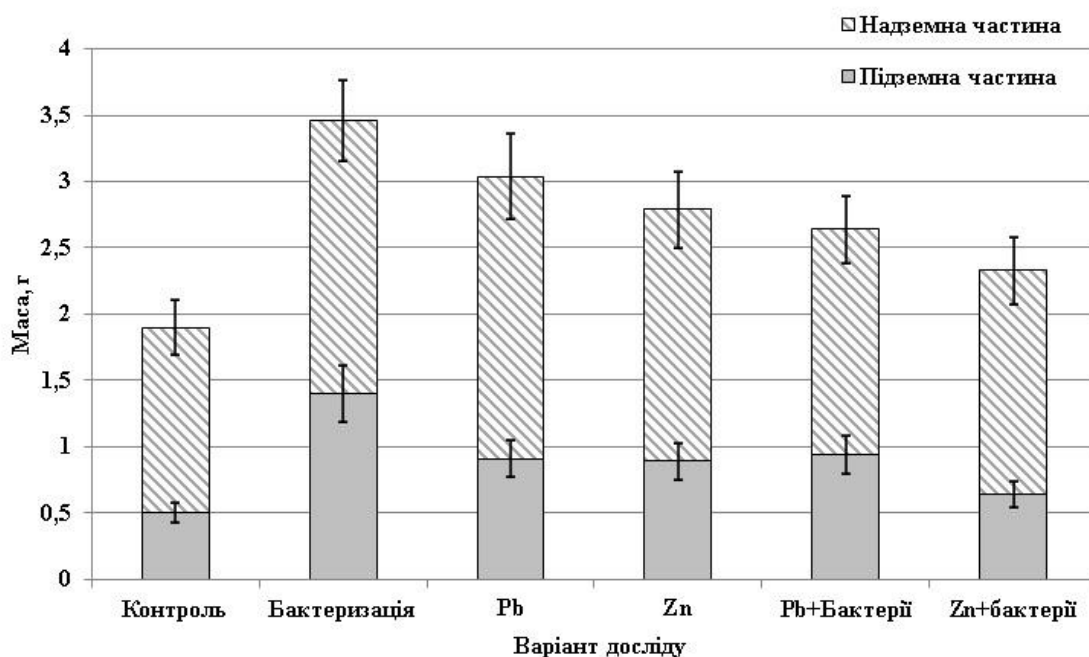


Рис. 3.5. Показники маси надземної і підземної частин тритиžневих рослин.

На рисунку 3.5 представлено результати вимірювання середньої маси підземної і надземної частин рослин наприкінці експерименту. Аналіз отриманих результатів показав, що найменша маса рослин (і коренів і надземної частини) була у контролі, а найбільша – у варіанті досліду з бактеризацією насіння. При цьому, маса коренів у контрольних рослин була значуще нижчою, порівняно з масою рослин майже в усіх інших варіантах, а маса коренів рослин, насіння яких було бактеризоване сумішшю суспензій ґрунтових бактерій, була істотно вищою за масу підземної частини рослин в інших варіантах досліду. Отже, мав місце позитивний вплив бактеризації на розвиток кореневої системи рослин газонної трави. За умов бактеризації насіння та додавання розчину PbSO_4 у ґрунт, маса коренів була на рівні 0,94 г, що було неістотно вище (на 0,03 г) за показник маси у варіанті з впливом тільки PbSO_4 . У варіантах дослідів без бактеризації та додавання розчинів солей металів і у варіанті з бактеризацією та за присутності свинцю маса підземної частини рослин майже не відрізнялась між варіантами та була вище за показник у контролі майже вдвічі. Найбільший негативний ефект (серед усіх варіантів з додаванням металів) на масу коренів рослин було зафіксовано у варіанті з бактеризацією та додаванням розчину ZnSO_4 до ґрунту – показник був майже 31% нижчим, порівняно з іншими варіантами з металами (Рис. 3.5). Отже, збільшення маси кореневої системи рослин відбувалося за будь-якого з досліджуваних впливів (порівняно з контролем). Якщо стимуляція розвитку кореневої системи рослин за присутності представників корисної ґрунтової мікрофлори є відомим фактом, то збільшення маси підземної частини рослин за присутності важких металів, на перший погляд виявляється неочікуваним. Проте, якщо розглядати додавання важких металів до середовища як стресовий фактор, який ми додавали під час посіву насіння у ґрунт – рослини могли почати адаптуватися до присутності металу і увімкнути універсальні біологічні реакції, зокрема, підсилення метаболічних, фізіологічних процесів, у тому числі, й темпів

росту кореневої системи. Також, за даними літератури, приріст маси коренів може спостерігатися за умов бактеризації та дії важких металів [48].

При аналізі результатів визначення маси надземної частини рослин у різних варіантах досліду, було встановлено, що, як і у випадку з визначенням маси коренів, показник у контролі виявився найменшим (Рис. 3.5). Проте, максимально значущі відмінності маси надземної частини рослин у досліді, порівняно з контролем, були тільки у варіантах з використанням бактеризації насіння та додавання розчинів солей металів до ґрунту. У варіантах з комбінованим впливом і бактеризації і солей металів, показники маси надземної частини рослин у досліді були дещо вищі, порівняно з контролем, але не значуще. В цілому ж, найбільший показник маси надземної частини рослин був у варіанті з використанням солі свинцю – маса була на 3% більшою за аналогічний показник у варіанті з бактеризацією насіння. Маса надземної частини рослин у варіанті з додаванням розчину PbSO_4 була більше, порівняно з контролем на 0,73 г (34%), та більшою за варіант з ZnSO_4 на 11%. У варіанті досліду з PbSO_4 та бактеризацією маса надземної частини рослин була на 20% нижче, порівняно з варіантом додавання розчину PbSO_4 до ґрунту. Тобто, бактеризація, у цьому випадку, викликала зменшення маси надземної частини рослин. Маса надземної частини рослин у варіанті з цинком була на 0,21 г (близько 11%) більшою, ніж у варіанті з комбінацією цинк+бактеризація. Тобто, мала місце тенденція зниження маси надземної частини рослин газонної травосуміші за умов комбінованого впливу – тобто, і додавання важкого металу до ґрунту, і бактеризації насіння. Отже, бактеризація не компенсувала негативний вплив важких металів на ріст надземної частини рослин газонної трави протягом трьох тижнів росту у вегетаційній камері. Можливо, якщо продовжити експеримент, рослини більшою мірою адаптувалися б до присутності важких металів. Також більшого розвитку дістали б і використані ґрунтові бактерії. Можливо, отримані результати, частково можуть бути пояснені тим, що на початкових етапах розвитку мікроорганізми випереджають коріння рослин в поглинанні

мінеральних поживних речовин, через швидкі темпи росту та високу співвідношення площі поверхні до об'єму в порівнянні з кореневими волосками. Згодом мікроорганізми конкурують не так ефективно як на початку росту [42]. З урахуванням даної гіпотези, ефект збільшення маси коренів рослин у нашому експерименті, можна пояснити компенсаторним механізмом у конкурентній боротьбі з мікроорганізмами за поживні елементи середовища.

За даними літератури, рослини борються із надмірною кількістю важких металів у навколишньому середовищі за допомогою складного комплексу біологічних активностей. Одним із відомих наслідків впливу важких металів на рослинний організм, є пригнічення їхньої фотосинтетичної активності, яка тягне за собою зміни вуглеводного обміну. Даний ефект проявлявся у багатьох дослідженнях. Але метаболізм рослин, що знаходяться на забруднених ґрунтах може бути частково захищений за рахунок мікроорганізмів – через конкуренцію за поживні речовини. Фотосинтетична активність може бути скоригована за допомогою мікробних спільнот, що заселяють ризосферу. При цьому, зниження біорізноманітності мікробіому ґрунтів виявляє більший негативний вплив на фотосинтез, порівняно з багатшими на мікроорганізми ґрунтами, де бактерії допомагають нейтралізувати токсичний вплив. Мікробіом ризосфери займає роль буфера між рослиною і елементами, що спричиняють негативну дію, допомагають рослині адаптуватися і підтримати свою фізіологічну активність. Наслідком зниження біорізноманітності ґрунту є те, що рослина стає більш чутливою до негативного впливу важких металів і втрачає здатність до активної фотосинтетичної діяльності. Проте у рослин, вирощених на ґрунтах із підвищеним вмістом цих металів, іноді спостерігали дещо вищий рівень фотосинтетичної активності та накопичення азоту в пагонах, що може тимчасово нівелювати токсичний вплив металів [42].

В межах даного дослідження було визначено вміст вуглеводів (моно-, олігоцукрів та суми цукрів) у сухій масі рослин наприкінці експерименту.

Аналіз отриманих результатів показав, що сума цукрів і вміст олігоцукрів у листках контрольних рослин була значуще вищою за показники у будь-якому варіанті досліді (Рис. 3.6). Максимально низький показник суми цукрів у листках рослин газонної трави спостерігали у варіанті досліді з бактеризацією і додаванням $PbSO_4$. Причому, цей показник був істотно нижчим за вміст цукрів у литках рослин у варіантах із окремим внесенням солі свинцю і бактеризацією насіння, відповідно, у 1,4 та 1,1 рази, відповідно (Рис. 3.6). Комбінація $ZnSO_4$ +бактеризація призводить до помітного зниження суми цукрів у порівнянні з контролем, на 39,4%, але не суттєво відрізняється від показника у варіанті з додаванням $ZnSO_4$.

Стосовно вмісту моноцукрів у листках зауважимо, що даний показник в більшості варіантів досліді і контролі був майже однаковим – на рівні 18 мг/г. Винятком був варіант досліді із додаванням $ZnSO_4$ до ґрунту – в листках рослин, що росли за присутності даного металу, вміст моноцукрів був значуще вищим за показники як у контролі, так і у варіантах досліді.

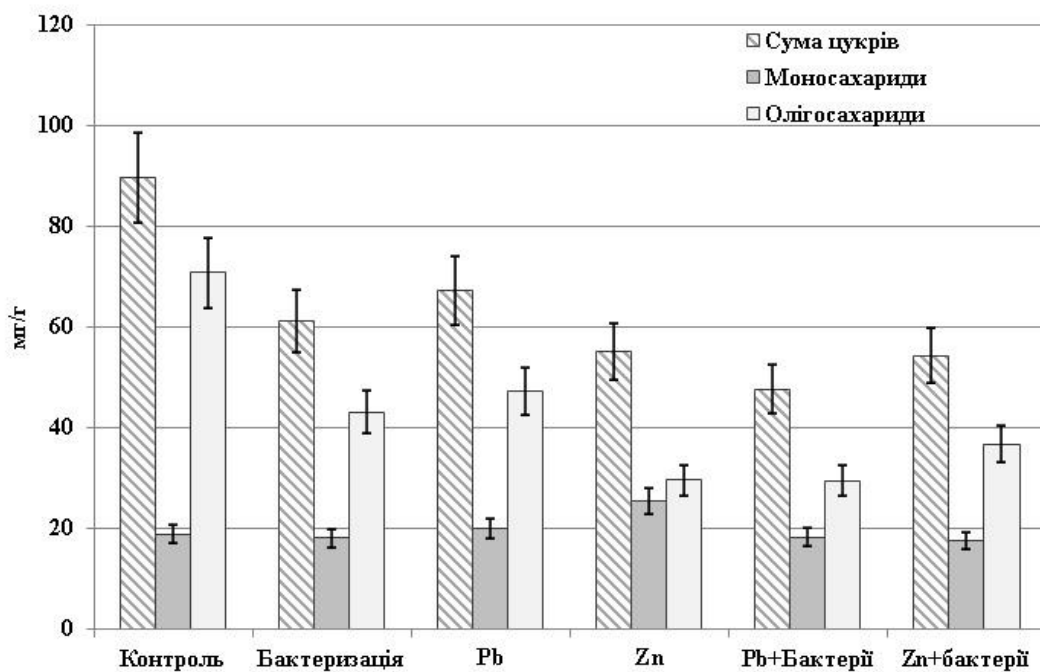


Рис. 3.6. Вміст цукрів у листках тритижневих рослин.

За результатами аналізу вмісту олігоцукрів у листках рослин газонної трави, було встановлено, що в усіх варіантах дослідів даний показник був значуще нижчим, порівняно з контролем. Мінімальний же показник мав місце у випадках внесення у ґрунт ZnSO_4 та за умов комбінованого впливу бактеризації насіння та внесення PbSO_4 , різниця з контролем становила, майже 41 %. За умов бактеризації насіння та у випадку присутності свинцю у ґрунті під час вирощування рослин, мало місце дещо менш істотне зниження вмісту олігоцукрів у листках, порівняно з іншими варіантами дослідів (Рис. 3.6).

Отже, значуще нижчий вміст цукрів у листках рослин, що зазнали будь-якого варіанту впливу – чи то бактеризація, чи внесення металів у ґрунт, чи комбінація впливів, може свідчити про зниження фотосинтезу і біосинтетичної активності рослин в цілому. Адже відомо, що олігоцукри, зокрема цукроза, слугує розчинним резервним вуглеводом, а також транспортною формою продуктів фотосинтезу. За даними літератури, важкі метали можуть проникати у листя і порушувати водний статус рослин, що зрештою призводить до осмотичного стресу. Цей осмотичний стрес впливає на ріст рослин, викликає дисбаланс поживних речовин. У відповідь рослини виробляють і накопичують осмоліти, наприклад, розчинні цукри, для протидії осмотичному дисбалансу, спричиненому стресом. Крім того, ці осмоліти беруть участь у передачі клітинної енергії, стабілізують мембрани і мінімізують поглинання металів, щоб справлятися з осмотичним та окислювальним стресами, викликаними металами. В решті-решт, рослини з найкращим біосинтезом осмопротекторів здатні адаптуватися до стресу [22]. Також зниження вмісту цукрів за умов стресу (якими можуть бути як абіотичні – важкі метали, так і біотичні – присутність бактерій у ризоплані) може свідчити про активацію механізмів протидії шкідливим впливам.

За даними літератури, присутність представників корисної ґрунтової мікрофлори у ризосфері та ризоплані рослин, зазвичай позитивно впливає на їх ріст і розвиток. Існують технології використання бактеризації корисними

бактеріями задля покращення темпів росту рослин та розвитку стійкості до несприятливих факторів навколишнього середовища [11]. Єдиною проблемою таких технологій є закріплення інтродукованих бактерій у ризосфері та ризоплані рослин. У зв'язку з цим, нами було проведено дослідження присутності бактерій у ризоплані рослин наприкінці досліду. Результати визначення чисельності бактерій на поверхні коренів рослин методом змивів з подальшим висівом на середовища МПА і МДА, представлені на рисунку 3.7. Аналіз отриманих даних показав, що чисельність бактерій, які росли на середовищі МПА істотно не відрізнялась між варіантами досліду. Дослідження культурально-морфологічних ознак колоній бактерій, що вирости на даному поживному середовищі дають підставу вважати, що у ризоплані розвивались бацили і псевдомонади. Іншими були результати підрахунку числа КУО/мл бактерій, що вирости на середовищі МДА – тут різниця між кількістю бактерій у ризоплані рослин різних варіантів досліду була суттєвою.

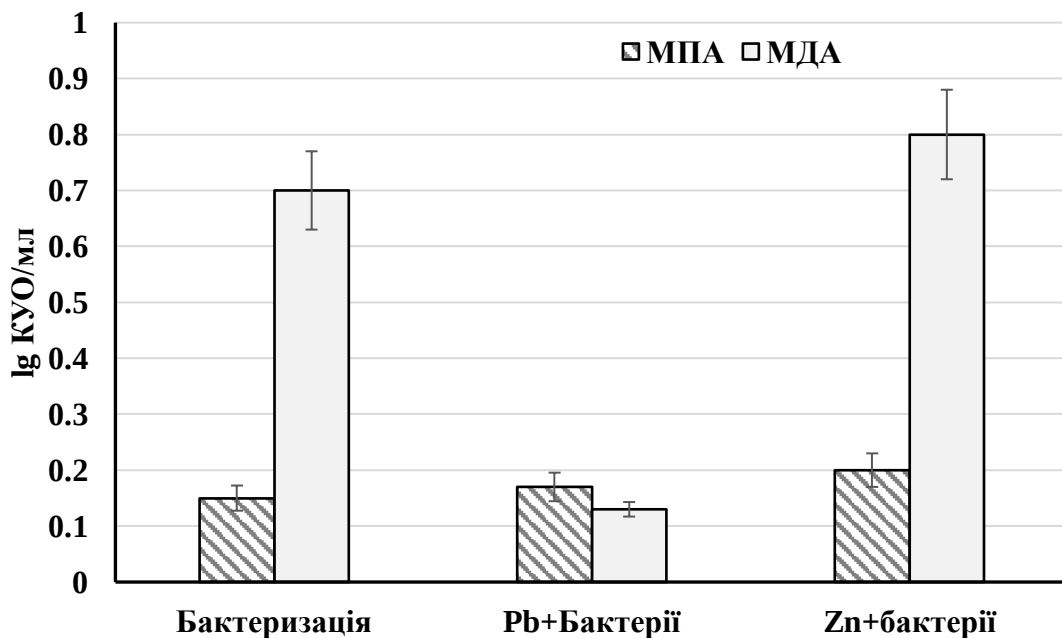


Рис. 3.7. Чисельність бактерій у ризоплані тритижневих рослин.

Так, найменше число бактерій було виділено з ризоплани рослин, що розвивались в присутності у ґрунті сульфату свинцю. Натомість, у варіанті

досліді з додаванням сульфату цинку, чисельність бактерій була майже у 7 разів вищою за показник у варіанті зі свинцем. Незначущою була різниця чисельності бактерій, що виділяли на середовищі МДА з коренів рослин, що розвивались без додавання металів, порівняно з варіантом із цинком (Рис. 3.7). Істотна різниця між чисельністю у ризоплані представників різних груп бактерій – азотфіксаторів (виділяли на середовищі МДА) і амоніфікаторів-гідролітиків (виділяли а середовищі МПА) може бути пов'язана з різними колонізуючими властивостями бактерій. Щодо впливу важких металів на розвиток бактерій у ризоплані рослин газонної травосуміші, за нашими даними, додавання сульфату свинцю значною мірою пригнічувало розвиток азотфіксувальних бактерій (Рис. 3.7).

Як відомо, здатність бактерій колонізувати поверхню коренів рослин регулюється одночасно бактеріальними і рослинними факторами [31]. Присутність бактерій у ризоплані не означає, що мікроорганізм є обов'язково прикріпленим до поверхні кореня. Але максимально позитивний ефект на ріст і розвиток рослин чинять бактерії, що розвиваються безпосередньо на поверхні кореневої системи. Нами було досліджено інтенсивність колонізації поверхні коренів рослин бактеріями, що були використані для бактеризації насіння. Аналіз отриманих результатів показав, що додавання до ґрунту солей важких металів негативно впливало на колонізувальні властивості інтродукованих бактерій (Табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

Колонізація коренів рослин газонної трави бактеріями

Варіант досліді	Бактеризація, бали
Бактеризація	2,4
BM1*+ бактеризація	1,5
BM2**+Бактеризація	1,3

* BM1 – свинець; **BM2 – цинк.

Отже, за результатами наших досліджень, важкі метали більшою мірою впливали на адгезивні властивості бактерій – а саме, знижували їх

колонізувальні властивості. При цьому важкі метали менш суттєво впливали на розвиток бактерій у ризоплані рослин газонної травосуміші.

Таким чином, продовження дослідження впливу забруднення середовища важкими металами є важливим. Бо їх вплив на ґрунтові спільноти та функції екосистеми, дозволить досліджувати та використовувати нові шляхи мінімізації забруднення ґрунту, відновлення життєво важливих мікробних процесів [27]. Важливими стратегіями бактеріальної ремедіації на сьогодні вважаються такі критерії: ці види бактерій, є частиною мікробіома рослин, тобто вони тісно взаємодіють з видом рослин; ці ж види бактерій виявляють характеристики, що сприяють росту рослин; а також водночас має місце стійкість бактерій до металу (що виражається у величині мінімальної інгібуючої концентрації), також стійкість до металу має бути пов'язана з біохімічними або молекулярними механізмами. Виявилося, що таким критеріям задовольняють представники ґрунтових бацил, псевдомонад та деякі ентеробактерії [21]. Але ж взаємодія рослин та мікроорганізмів відіграє ключову роль в адаптації до забруднених важкими металами середовищ і, таким чином, може бути глибоко вивчена для покращення методів фіто- і мікробіоремедіації. Особливу зацікавленість науковців викликають асоційовані з рослинами мікроорганізми, зокрема ризобактерії, асоціативні бактерії. Вони сприяють росту рослин, відіграють важливу роль у рекультивації забруднених ґрунтів та посиленні росту рослин за допомогою різних механізмів, які включають біологічну фіксацію азоту, розчинення фосфатів, продукцію фітогормонів (ІОК, цитокінінів та гіберелінів), вироблення сидерофорів та ін. Найбільш цінними є бактерії, стійкі до металів, та агенти, що посилюють фіторемедіацію в ґрунтах, забруднених важкими металами. Застосування таких технологій може привести до помітного поліпшення іммобілізації металів у ґрунтах, або біомасі рослин – але такі ґрунти стануть придатними для подальшого використання, навіть для сільськогосподарських цілей.

ВИСНОВКИ

1. За додавання до поживного середовища розчинів солей важких металів відбувалося зниження числа КУО/мл ґрунтових бактерій протягом вже першої доби культивування у випадку *Azotobacter sp.*, *Azospirillum brasilense* та *Bacillus cereus*, а починаючи з другої доби – й у випадку *Pseudomonas putida*.
2. Внесення сульфату свинцю до поживного середовища спричинювало лізис колоній *Azospirillum brasilense* на четверту добу культивування.
3. Будь-який з досліджуваних впливів – і бактеризація, і важкі метали – негативно впливали на схожість насіння газонної травосуміші.
4. Бактеризація і важкі метали спричинювали збільшення маси надземної частини та коренів тритижневих рослин газонної травосуміші, що може розцінюватись як адаптивні прояви.
5. Зниження вмісту олігоцукрів і суми цукрів як за умов бактеризації, так і за присутності важких металів може свідчити про активацію механізмів протидії будь-яким впливам на ранніх етапах розвитку рослин.
6. Присутність свинцю викликала зниження чисельності діазотрофних бактерій у ризоплані рослин газонної травосуміші, чого не відбувалося за умов розвитку в присутності цинку.
7. Обидва протестовані важкі метали спричинювали зниження здатності бактерій до колонізації ризоплану тритижневих рослин газонної травосуміші.

ЛІТЕРАТУРА

1. Атраментова Л.О. Статистичні методи в біології / Л.О. Атраментова, О.М. Утєвська. – Харків: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
2. Заіменко Н.В. Сучасні методи в алелопатичних дослідженнях / Н.В. Заіменко, Н.П. Дідик, Н.А. Павлюченко, Н.В.Росіцька та ін. // Методичний посібник. – Київ: Видавництво Ліра-К, 2021. – 200 с.
3. Климнюк С.І. Практична мікробіологія / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Широбоков. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
4. Лукаш О.І. Оцінка забруднення ґрунту важкими металами у харківській області / О.І. Лукаш, А.В. Мамотенко // Information activity as a component of science development. Мат. XIII Міжнар. науково-практичної конф. (04-07 квітня 2023 р., м. Едмонтон, Канада). – International Science Group – 2023. – С. 77–79.
5. Мазур В.А. Моніторинг забруднення ґрунтів важкими металами науково-дослідної ділянки в НДГ «Агрономічне» Вінницького національного аграрного університету / В.А. Мазур, О.І. Варадій // Сільське господарство та лісівництво. – 2019. – № 13. – С. 16–24.
6. Мислива Т.М. Важкі метали в урбаноземах агроселітебних ландшафтів південно-західної частини м. Житомира / Т.М. Мислива, Л.О. Герасимчук // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер.: агрономія. – 2011. – Т. 162. – С. 155–165.
7. Рибалова О.В. Вплив військових дій на забруднення ґрунтів важкими металами / О.В. Рибалова, С.О. Золотарьова // Проблеми пожежної безпеки 2022. Мат. Міжнар. науково-практичної конф. (12–13 жовтня 2022 р., м. Харків, Україна). – Х.: НУЦЗ України, 2022. – С. 376–378.
8. Abbaszade Gorkhmaz. Exploring the relationship between metal(loid) contamination rate, physicochemical conditions, and microbial community dynamics in industrially contaminated urban soils / G Abbaszade, M Toumi, R Farkas et al. // Science of the Total Environment.– 2023.– Vol. 897.– Art. 166094.

9. Ao Lun. Different urban forest tree species affect the assembly of the soil bacterial and fungal community / L Ao, M Zhao, X Li, G Sun // *Microbial ecology*.– 2022.–Vol. 83.– P. 447-458
10. Barra Caracciolo, A. Characterization of the belowground microbial community in a poplar-phytoremediation strategy of a multi-contaminated soil. / A Barra Caracciolo, P. Grenni, G.L. Garbini et al. // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 11.– Art. 2073.
11. Barra Caracciolo A. Rhizosphere microbial communities and heavy metals / A Barra Caracciolo, V Terenzi // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9. – Iss. 7. – Art. 1462.
12. Bender S. F. Soil biota enhance agricultural sustainability by improving crop yield, nutrient uptake and reducing nitrogen leaching losses / SF Bender, MGA van der Heijden // *Journal of Applied Ecology*. – 2015. – Vol. 52. – Iss. 1. – P. 228–239.
13. Bharti Ruchi. Effect of heavy metals: An overview / R Bharti, R Sharma // *Materials Today: Proceedings*.– 2022.– Vol. 51.– P. 880-885.
14. Cabot C. A role for zinc in plant defense against pathogens and herbivores / C Cabot, S Martos, M Llugany et al. // *Frontiers in plant science*. – 2019.– Vol. 10.– Art. 1171.
15. Delgado-Baquerizo, Manuel. Global homogenization of the structure and function in the soil microbiome of urban greenspaces / M Delgado-Baquerizo, DJ Eldridge, YR Liu et al. // *Science Advances*. – 2021.– Vol. 7.– Iss. 28.– Art. eabg5809.
16. Dinesh R. Soil polluted with nano zno reveals unstable bacterial communities and decoupling of taxonomic and functional diversities / R Dinesh, CP Sreena, TE Sheeja et al. // *Science of The Total Environment*.– 2023.– Vol. 889.– Art. 164285.
17. Epp Schmidt Dietrich J. Metagenomics Reveals Bacterial and Archaeal Adaptation to Urban Land-Use: N Catabolism, Methanogenesis, and Nutrient Acquisition / DJ Epp Schmidt, DJ Kotze, E Hornung et al. // *Frontiers in Microbiology*. – 2019.– Vol 10.– Art. 2330.

18. Fakhar, Ali. Heavy metal remediation and resistance mechanism of Aeromonas, Bacillus, and Pseudomonas: A review / A Fakhar, B Gul, AR Gurmani et al // Critical Reviews in Environmental Science and Technology.– 2020.– Vol. 52.– Iss. 11.– P. 1868-1914.
19. Fashola, M.O. Heavy metal pollution from gold mines: Environmental effects and bacterial strategies for resistance / MO Fashola, VM Ngole-Jeme, OO Babalola // International journal of environmental research and public health. – 2016.– Vol. 13.– Iss. 11.– Art. 1047.
20. Gómez-Brandón Maria. Influence of land use on the microbiological properties of urban soils / M Gómez-Brandón, C Herbón, M Probst et al. // Applied Soil Ecology.– 2022.– Vol. 175.– Art.104452.
21. Gonzalez Henao, Sarah. Heavy metals in soils and the remediation potential of bacteria associated with the plant microbiome / S Gonzalez Henao, T Ghneim-Herrera // Frontiers in Environmental Science.– 2021. – Vol. 9. – Art. 604216.
22. Hoque M. N. Melatonin modulates plant tolerance to heavy metal stress: morphological responses to molecular mechanisms / MN Hoque, M Tahjib-Ul-Arif, A Hannan et al. // International journal of molecular sciences. – 2021. – Vol. 22. – Iss. 21. – Art. 11445.
23. Ivashchenko K.V. Microbial indicators of urban soils and their role in the assessment of ecosystem services: a review / ND Ananyeva, KV Ivashchenko, SV Sushko // Eurasian Soil Science. – 2021.– Vol. 54.– P. 1517-1531.
24. Jassim, Y. A. Soil microorganisms: characteristics, importance and their functional role./ Y.A. Jassim, HAH Chabuk, ZAN Al-Yassiry // Journal of biology and nature.–2023.– P. 14-19.
25. Joyner, J. L. Green infrastructure design influences communities of urban soil bacteria / J.L Joyner, J. Kerwin, M. Deebet et al. // Frontiers in microbiology.– 2019.– Vol. 10.–Art. 982.
26. Kaviya, N. Role of microorganisms in soil genesis and functions. In mycorrhizosphere and pedogenesis / N Kaviya, VK Upadhyay, J Singh et al. // Mycorrhizosphere and pedogenesis. – 2019.– P. 25-52.

27. Ma Jiaojiao. Heavy Metal Pollution Increases CH₄ and Decreases CO₂Emissions Due to Soil Microbial Changes in a Mangrove Wet-land: Microcosm Experiment and Field Examination / J Ma, S Ullah, A Niu et al. // *Chemosphere*. –2021.– Vol. 269.– Art. 128735.
28. Martín, J. R. Impact of 70 years urban growth associated with heavy metal pollution / JAR Martín, C De Arana, JJ Ramos-Miras, C Gil, R Boluda // *Environmental pollution*.– 2015.– Vol. 196.–P.156-163.
29. Marzuki, Ismail. Performance of cultured marine sponges-symbiotic bacteria as a heavy metal bio-adsorption / I Marzuki, R Ahmad, M Kamaruddin, R Asaf et al. // *B IOD IVERSITAS*.–2021.–Vol. 22.– Iss. 12.
30. Mbachu, A. E. Role of microorganisms in the degradation of organic pollutants: a review / AE Mbachu, EI Chukwura, NA Mbachu // *Energy Environ Eng*.–2020.– Vol. 7.– Iss.1.– P. 1-11.
31. Merget Bernhard. Influence of Plant Species, Tissue Type, and Temperature on the Capacity of Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* To Colonize, Grow, and Be Internalized by Plants / B Merget, KJ Forbes, F Brennan et al. // *Applied and Environmental Microbiology*.– 2019.– Vol. 85.– Iss. 11.– P. 1-16.
32. Mejia M.P. Soil microbial community composition and tolerance to contaminants in an urban brownfield site / MP Mejia, CA Rojas, E Curd et al. // *Microbial ecology*.– 2023.– Vol. 85.– Iss. 3.– P. 998-1012.
33. Mirjam Pulleman. Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services—an overview of european approaches / M Pulleman, R Creamer, U Hamer et al. // *Current Opinion in Environmental Sustainability*. – 2012.– Vol. 4.– Iss. 5.– P. 529-538.
34. Murthy S. Effect of lead on metallothionein concentration in leadresistant bacteria *Bacillus cereus* isolated from industrial effluent / S Murthy, G Bali, SK Sarangi // *African Journal of Biotechnology*. – 2011. – Vol. 10. – Iss. 71. – P. 15966-15972.

35. Naik M. M. Lead resistant bacteria: lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring / MM Naik, SK Dubey // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013.– Vol. 98. – P. 1-7.
36. Nkongolo K.K., Advances in monitoring soil microbial community dynamic and function / KK Nkongolo, R Narendrula-Kotha // *Journal of applied genetics*.– 2020.– Vol. 61.– Iss. 2.– P. 249-263.
37. Nnaji, N. D. Bioaccumulation for heavy metal removal: a review / ND Nnaji, H Onyeaka, T Miri, C Ugwa // *SN Applied Sciences*. – 2023.– Vol. 5.– Iss. 5.–Art. 125.
38. Nugent A. A framework for soil microbial ecology in urban ecosystems / A Nugent, SD Allison // *Ecosphere*.– 2022.– Vol. 13.– Iss. 3.– Art. e3968.
39. Ojuederie, O.B. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments / OB Ojuederie, OO Babalola // *International journal of environmental research and public health*.– 2017.–Vol. 14.– Iss. 12.–Art. 1504.
40. Ramirez K. S. Biogeographic patterns in below-ground diversity in new york city's central park are similar to those observed globally / KS Ramirez, JW Leff, A Barberán et al. // *Proceedings of the royal society B: biological sciences*. –2014.– Vol. 281. – Iss. 1795.
41. Ruiz-Leyva I. Taxonomic and functional diversity of bacterial communities of agriculture soil exposed to zinc peroxide nanoparticles (nZnO₂) / I Ruiz-Leyva, F Paraguay-Delgado, DE Salas-Leiva et al. // *Applied Soil Ecology*.– 2023.–Vol. 189.– Art. 104901
42. Rusinowski, S. How autochthonous microorganisms influence physiological status of *Zea mays* L. cultivated on heavy metal contaminated soils? / S Rusinowski, A Szada-Borzyszkowska, P Zieleźnik-Rusinowska et al. // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2019.– Vol. 26.– P. 4746-4763.
43. Saleem M. More than the sum of its parts: microbiome biodiversity as a driver of plant growth and soil health / M Saleem, J Hu, A Jousset // *Annual review of ecology, evolution, and systematics*.–2019.–Vol. 50.– Iss. 1.– P. 145-168.

44. Wall Diana H. Soil biodiversity and human health / DH Wall, UN Nielsen, J Six // *Nature*. – 2015. – Vol. 528. – Iss. 7580. – P. 69–76.
45. Wang, H. Soil bacterial diversity is associated with human population density in urban greenspaces / H Wang, M Cheng, M Dsouza et al. // *Environmental science & technology*. – 2018. – Vol. 52. – Iss. 9. – P. 5115-5124.
46. Yang Z.N. Soil microbiomes divergently respond to heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated industrial sites / ZN Yang, ZS Liu, KH Wang et al. // *Environmental Science and Ecotechnology*. – 2022. – Vol. 10. – Art. 100169.
47. Yao, Haifeng. Degree of urbanization and vegetation type shape soil biodiversity in city parks / H Yao, Z Li, S Geisen, Z Qiao et al. // *Science of the Total Environment*. – 2023. – Vol. 899. – Art. 166437.
48. Zainab N. PGPR-mediated plant growth attributes and metal extraction ability of *Sesbania sesban* L. in industrially contaminated soils / N Zainab, Amna, AA Khan, MA Azeem et al. // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11. – Iss. 9. – Art. 1820.

SUMMARY

The effect of heavy metals on the number of individual species of soil bacteria, their colonization properties and role in the development of plants in a lawn grass mixture was studied. The work used soil bacteria *Azotobacter* sp., *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida* and *Bacillus cereus*; and lawn grass seeds (including red fescue, perennial pasture ryegrass, reed fescue, annual ryegrass). The number of CFU/ml of bacteria was determined under the conditions of adding lead sulfate or zinc sulfate to the nutrient medium. Seed germination, plant weight and sugar content in the leaves of three-week-old plants were also assessed.

It was found that heavy metals negatively affected the development of bacteria, the decrease in their number occurred mainly during the first day of cultivation. The most sensitive to the action of heavy metals were *Azospirillum brasilense* bacteria. In general, heavy metals reduced the adhesive properties of bacteria and had a less significant effect on the development of bacteria in the rhizoplane of lawn grass mixture plants. The increase in the mass of three-week-old plants and the content of sugars in leaves under bacterization and the presence of heavy metals can be regarded as adaptive manifestations.

Key words: soil bacteria, wild cereals, root colonization, sugar content in leaves.