

# ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ И ГУМАТОВ ДЛЯ ЛЕСОВОССТАНОВЛЕНИЯ И ПОВЫШЕНИЯ ДЕПОНИРОВАНИЯ УГЛЕРОДА ДРЕВЕСНЫМИ РАСТЕНИЯМИ

А.М. Назаров<sup>1</sup>, И.О. Туктарова<sup>1</sup>, С.П. Четвериков<sup>2</sup>,  
Р.С. Иванов<sup>1, 2\*</sup>, М. Тимергалин<sup>2</sup>,  
Н.А. Рязанова<sup>1, 3</sup>, Г.Р. Кудоярова<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Уфимский государственный нефтяной технологический университет, Уфа, Россия; <sup>2</sup>Уфимский институт биологии и <sup>3</sup>Южно-Уральский ботанический сад-институт Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

\* E-mail: ivanovirs@mail.ru

Статья поступила в редакцию 12.09.2023; принята к печати 08.10.2023

Восстановление лесов в районах, где они когда-то росли, является важным шагом на пути к увеличению связывания (секвестрации) углерода. Однако лесовосстановление требует увеличения текущего уровня производства саженцев в лесопитомниках. Целью данной работы было изучение эффективности препаратов на основе бактерий и гуматов для стимуляции роста сеянцев деревьев в условиях питомника. Для обработки древесных растений сосны и тополя пирамидального использовали два отобранных штамма *Pseudomonas* и гуматы. Обработку сеянцев проводили во время их пересадки и после нее и оценивали влияние препаратов на удлинение побегов, а также массу побегов и корней. Обработка обоими штаммами бактерий усиливала рост побегов и корней тополя и сосны, что объяснялось их способностью синтезировать ауксин индолилуксусную кислоту. *P. protegens* DA1.2 оказался более эффективным, чем штамм *Pseudomonas* sp. 4CH. Обработка растений гуматами увеличивала индекс баланса азота и содержание хлорофилла в листьях проростков тополя, что может повышать депонирование углерода благодаря более высокой скорости фотосинтеза. Кроме того, комбинация гуматов с *P. protegens* DA1.2 увеличивала накопление биомассы побегов у только что пересаженных растений сосны, что указывает на возможность использовать эту комбинацию при посадке растений. Увеличение длины и массы побегов и корней служит показателем улучшения качества посадочного материала, необходимого для успешного лесовосстановления и увеличения секвестрирования углекислого газа.

**Ключевые слова:** декарбонизация; древесные насаждения; ускорение роста саженцев; бактериальные препараты; гуминовые вещества.

## BACTERIA- AND HUMATE-BASED PREPARATIONS FOR FOREST RESTORATION AND FOR ENHANCING CARBON SEQUESTRATION BY TREES

A.M. Nazarov<sup>1</sup>, I.O. Tuktarova<sup>1</sup>, S.P. Chetverikov<sup>2</sup>, R.S. Ivanov<sup>1, 2\*</sup>, M. Timergalin<sup>2</sup>,  
N.A. Ryzanova<sup>1, 3</sup>, G.R. Kudoyarova<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Ufa State Oil Technology University, Ufa, Russia; <sup>2</sup>Ufa Institute of Biology and <sup>3</sup>South Urals Botanical Garden-Institute of Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

\* E-mail: ivanovirs@mail.ru

Forest restoration in areas previously occupied by forests is important for increasing carbon sequestration. For this, however, stationary sapling production in nursery gardens must be increased. The objective of the present work is to evaluate the efficacy of preparations based on bacteria and humates in stimulating the growth of tree seedlings in nursery-garden conditions. To treat Scots-pine and Bolle's-poplar, two *Pseudomonas* strains and a humate preparation were used. Seedlings were treated during and after their transplantation. Treatment effects were assessed by measuring shoot elongation and shoot and root mass. Both bacterial strains enhanced shoot and root growth probably because of the ability of the bacteria to produce the auxin indolyl acetate. *P. protegens* DA1.2 proved to perform better compared with *Pseudomonas* sp.4CH. Humate treatment increased the index of nitrogen balance and the content of chlorophyll in poplar shoot leaves. This effect may enhance carbon sequestration due to increased photosynthesis. Combining humates with *P. protegens* DA1.2 can enhance increasing the biomass of pine shoots right after their transplantation. Such a combination may be used upon tree planting. Increased shoot and root size and mass evidence an improvement of the conditions of trees to be planted for the sake of successful forest restoration and enhanced carbon sequestration.

**Keywords:** carbon reduction, tree plantations, sapling growth, bacterial preparations, humates.

## Введение

Вырубка лесов является одной из важнейших антропогенных причин увеличения уровня парниковых газов в мире [2]. Посадка деревьев может увеличить способность лесов поглощать углерод [3], а лесовосстановление помогает улучшить климатические условия [4]. Подчеркивается, что секвестрация углерода в результате посадки деревьев и лесовосстановления зависит от выращивания посадочного материала в питомниках [5]. Но молодые сеянцы сосны в первые годы после посадки растут медленно [6].

Одним из путей решения проблемы получения качественных саженцев деревьев для древесных насаждений является внедрение в технологию их выращивания современных физиологически активных препаратов на основе бактерий и гуминовых веществ. Их использование считается экологически безопасным механизмом стимуляции роста растений по сравнению с большим количеством удобрений и получает все большее распространение в сельском хозяйстве [7]. Хорошо известно, что при раздельном внесении ризосферных бактерий [8] и гуминовых веществ (ГВ) (продукты разложения органического вещества, извлеченные из бурых углей, торфа и других источников) [1] каждый из этих препаратов положительно влияет на рост растений. Однако сообщений об их воздействии на деревья значительно меньше, чем сведений об их влиянии на травянистые растения. Тем не менее, было показано, что гуматы усиливали рост деревьев и урожайность апельсинов и грейпфрутов [9], а гуминовые кислоты усиливали рост посадочного материала каучуконосов [10]. Ризосферные микробы усиливали рост сеянцев тика (*Tectona grandis*) [11], а бактерии штамма *Pseudomonas fluorescens* способствовали росту сеянцев осины в условиях дефицита минерального питания [12]. Ризобактерии, стимулирующие рост растений (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, PGPR), оказывают благотворное влияние на растения, в том числе деревья, благодаря увеличению доступности содержащихся в почве питательных веществ, а также синтезу метаболитов, в том числе гормонов растений [13]. Исследования, которые проводились на сельскохозяйственных культурах, показали, что совместное действие гуматов и бактерий оказалось более эффективным, чем применение каждого из них по отдельности [14]. Однако практически не было работ, посвященных совместному использованию PGPR и гуминовых веществ для ухода за древесными питомниками. В связи с этим целью данной работы явилось изучение эффективности препаратов на основе бактерий и ГВ для стимуляции роста растений как средства повышения качества посадочного материала деревьев и более устойчивого производства саженцев для лесовосстановления с целью оптимизации депонирования углерода. Новизна данной работы заключается в

изучении комплексного действия гуматов и микроорганизмов на рост саженцев деревьев, которое, насколько нам известно, ранее не проводилось. Мы предположили, что совместное применение бактерий и гуминовых веществ может быть более эффективным в стимуляции роста саженцев деревьев в питомниках, чем использование каждого из них в отдельности.

## Материалы и методы исследований

### Бактериальные штаммы и среды для их культивирования

В работе использовали два штамма грамотрицательных бактерий из коллекции микроорганизмов Уфимского института биологии, выделенные из природных источников: *Pseudomonas protegens* DA1.2 (депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов В-3542D), описан в статье Четверикова и соавт. [15] и *Pseudomonas sp.* 4СН (депонирован в коллекции микроорганизмов УИБ-57). Эти штаммы бактерий были выбраны для обработки саженцев деревьев, поскольку в предыдущих опытах их сочетание с гуматами стимулировало рост травянистых растений (пшеница) [14]. Бактерии культивировали в колбах Эрленмейера на среде Кинга В (2% пептон, 1% глицерин, 0,15%  $K_2HPO_4$ , 0,15%  $MgSO_4 \times 7H_2O$ ) на шейкере Innova 40R (Нью-Брансуик, Нью-Джерси, США) при 160 об/мин в течение 48 ч при 28 °С. Количество клеток в культурах измеряли нанесением серийных разведений на среду Кинга В с агар-агаром (15 г/л) и последующим подсчетом числа колониеобразующих единиц (КОЕ). Бактериальную культуру разбавляли стерильной водой и получали раствор для обработки растений. Способность к мобилизации фосфатов оценивали путем измерения размера прозрачных зон на среде Пиковского, а в качестве индикатора бактериальной нитрогеназной активности использовали анализ восстановления ацетилена, как описано [16].

### Извлечение гуминовых веществ

Источником гуминовых веществ служил бурый уголь Тюльганского месторождения в Оренбургской области Российской Федерации. Уголь смешивали с 0,1 М КОН в соотношении 1:10 и ГВ экстрагировали в течение двух часов при перемешивании при 1500 об/мин. Осадок удаляли центрифугированием при 12000 об/мин в течение 10 мин.

### Условия роста и обработка растений

Нами была использована общепринятая технология выращивания сеянцев деревьев в питомниках; при этом комбинированная обработка сеянцев деревьев бактериями и гуматами в данном исследовании

применялась впервые. Мы модифицировали технологию, которая ранее успешно применялась на растениях пшеницы [14]. Опыты проводили в питомнике Башкирского государственного аграрного университета (54°80' с.ш., 55°84' в.д., 170 м над уровнем моря), Уфимский район Башкортостана, Российская Федерация, а также в Южно-Уральском Ботаническом саду-институте УфНЦ РАН. Для опыта использовали черенки тополя башкирского пирамидального (гибрид тополя итальянского пирамидального и тополя черного (*Populus italica pyralis* × *P. nigra*), полученный в конце 1930-х годов на Башкирской лесной опытной станции). Эти породы деревьев были выбраны для экспериментов, так как они часто используются для лесовосстановления и озеленения городов во многих регионах. В первой декаде апреля с началом интенсивного снеготаяния отбирали ветки тополя прошлой годней генерации, от которых отделяли черенки длиной 20 см и закладывали для месячной стратификации. Перед обработкой препаратами на основе бактерий и ГВ черенки помещали в воду для прорастания первых корешков. Черенки высаживали в грунт на 2/3 их длины под углом 45° к поверхности земли.

Перед посадкой сеянцы тополя замачивали в 2 л воды, в которую добавляли по 50 мл бактериальной взвеси ((4 ± 0,5) × 10<sup>9</sup> КОЕ/мл) и ГВ (2 г/л) по отдельности или в комбинации. Рассаду поливали 2 раза в месяц двумя литрами препаратов бактерий и ГВ той же концентрации. Контрольные растения обрабатывали таким же количеством воды без добавок. Через три месяца после посадки саженцев тополя измеряли длину боковых побегов.

Двухлетние саженцы сосны *Pinus sylvestris* L. из питомника высаживали на расстоянии 50 см друг от друга. Перед посадкой их замачивали в суспензии бактерий, гуматов или их смеси, а затем поливали теми же растворами, что описаны выше. Параллельно сеянцы сосны, высаженные из питомника за 1 и 2 года до настоящих опытов (ниже они обозначены как 3- и 4-летние сеянцы соответственно), три раза поливали таким же образом бактериями и ГВ (отдельно или в смеси). Скорость роста сосны оценивали по изменению длины главного и боковых побегов за четыре месяца. Побеги и корни двухлетних сеянцев сосны отбирали после окончания роста сеянцев в текущем году. Корни промывали водопроводной водой и сушили, как и побеги, в проветриваемом сушильном шкафу при 60 °С в течение 48 ч для измерения их сухой массы (питомник БГАУ).

Также проводили оценку влияния препаратов ГВ и бактерий (по отдельности и в сочетании друг с другом) на удлинение побегов, отстающих в скорости роста (нестандартных), – длина менее 8–10 см и толщина ствола менее 2 мм (в соответствии с ГОСТ 3317-77 и Приказом Министерства природы РФ от 04.12.2020

№ 1014) – саженцев сосны (в возрасте 1 года), которые были специально отобраны перед их пересадкой (Питомник Ботанического сада-института).

### Анализ содержания пигментов

Содержание хлорофилла (a + b), флавоноидов и индекс баланса азота (NBI) [17] в листьях измеряли с помощью прибора DUALEX SCIENTIFIC+ (FORCE-A, Париж, Франция) в соответствии с рекомендациями производителя.

### Анализ индолилуксусной кислоты (ИУК) в бактериальных культуральных средах

На вторые сутки культивирования бактерий проводили иммуноанализ питательных сред. ИУК экстрагировали из культуральных сред бактерий диэтиловым эфиром, как описано [18]. Вкратце, 1 мл бактериальной культуральной среды разбавляли дистиллированной водой и подкисляли HCl до pH 2,5 для экстракции ИУК диэтиловым эфиром. Затем ИУК экстрагировали из диэтилового эфира раствором NaHCO<sub>3</sub> и реэкстрагировали диэтиловым эфиром из подкисленной водной фазы. Анализ ИУК проводили методом иммуноферментного анализа с использованием специфических антител против ИУК, как описано [19]. Надежность метода обусловлена специфичностью антител к ауксинам и применением экстракционного метода, позволяющего эффективно извлекать ИУК при снижении количества примесей за счет уменьшения объема экстрагентов на каждой стадии экстракции/реэкстракции. Эффективность очистки ИУК перед иммуноанализом была подтверждена изучением хроматографического распределения, которое показало, что пики иммунореактивности совпадают только с положениями стандартов ИУК.

### Статистика

Данные обработаны с помощью программы Statistica версии 10 (Statsoft, Москва, Россия) и представлены в таблицах и рисунках как среднее значение ± стандартная ошибка. Статистическую значимость различий между средними значениями оценивали с помощью дисперсионного анализа с последующим применением критерия Дункана ( $p < 0,05$ ). На рисунках средние значения, статистически отличающиеся друг от друга, обозначены разными буквами. Количество повторов ( $n$ ) указано в подписях к рисункам.

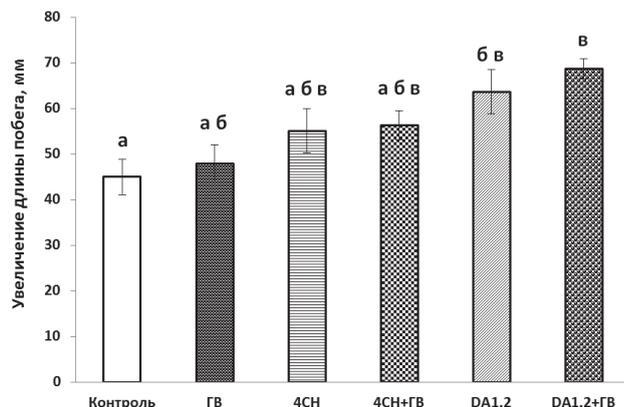
### Результаты

Исследуемые штаммы бактерий проявляли нитрогеназную активность и способность солибилизировать фосфаты и синтезировать ИУК (табл. 1).

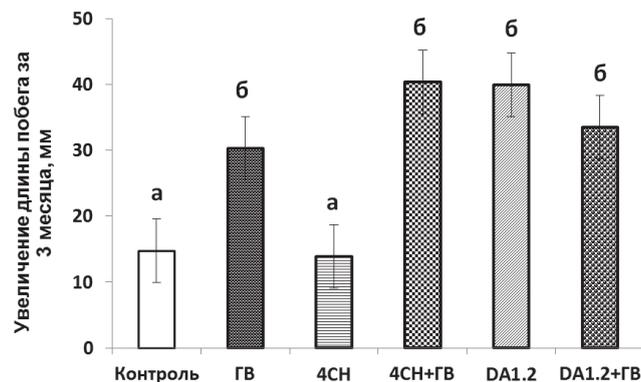
Измерение длины побега через 4 месяца после пересадки 2-летних сеянцев сосны показало, что

Свойства бактерий, стимулирующих рост

|                            | Нитрогеназная активность,<br>нмоль C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> /(ч×мл) | Синтез ИУК, нг/мл | Солюбилизация фосфатов,<br>мм |
|----------------------------|--|-------------------|-------------------------------|
| <i>P. protegens</i> DA1.2  | 20,8 ± 0,3   | 870 ± 44          | 18 ± 2                        |
| <i>Pseudomonas</i> sp. 4СН | 20,0 ± 0,2   | 837 ± 55          | 15 ± 2                        |



**Рис. 1.** Увеличение длины побегов (усредненные значения для главного и боковых побегов) 2-летних сеянцев сосны за 4 месяца после их пересадки и трехкратного полива бактериальной взвесью *Pseudomonas* sp. 4СН, *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4СН + ГВ и DA1.2 + ГВ). n = 10. Буквенные обозначения средних величин, которые статистически отличаются от других, не содержат те же буквы



**Рис. 2.** Увеличение длины побегов отстающих в росте (нестандартных) саженцев 1-летних сеянцев сосны за 2 месяца после их пересадки и трехкратного полива бактериальной взвесью *Pseudomonas* sp. 4СН, *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4СН + ГВ и DA1.2 + ГВ). n = 10. Смысл буквенных обозначений см. рис. 1

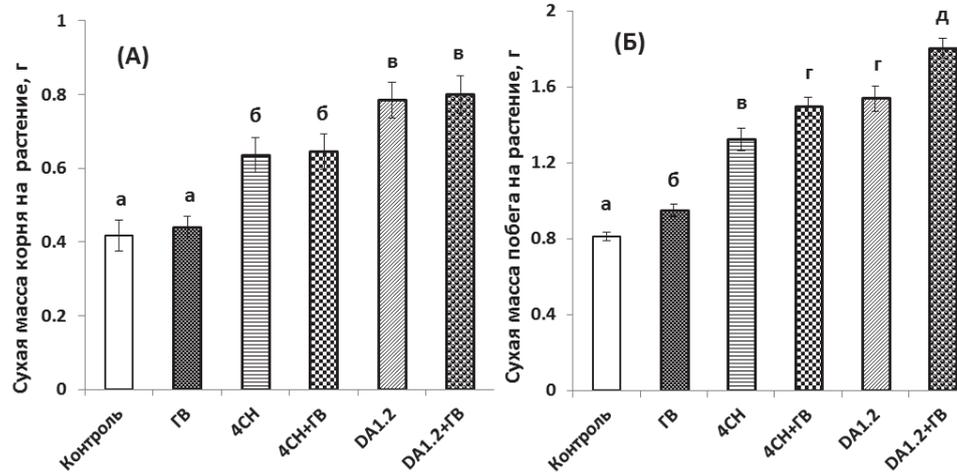
рост побега существенно ускорился по сравнению с контролем при обработке растений бактериями *P. protegens* DA1.2 и в их сочетании с ГВ (рис. 1). Побеги растений, обработанных ГВ в сочетании с бактериями *Pseudomonas* DA1.2, были достоверно длиннее по сравнению с побегами растений, обработанных только ГВ, в то время как между растениями, обработанными только ГВ, или только этими бактериями, не было достоверной разницы по длине побега (рис. 1). Скорость удлинения побегов у растений, обработанных *Pseudomonas* sp. 4СН и его комбинацией с ГВ, занимала промежуточное положение между таковой у контрольных растений и растений, обработанных *P. protegens* DA1.2.

Оценка влияния обработки нестандартных саженцев (см. материалы и методы) препаратами перед пересадкой выявила увеличение скорости удлинения побегов под влиянием бактерий и ГВ (рис. 2). Однако *Pseudomonas* sp. 4СН без ГВ не влияли на скорость удлинения побегов. Препараты оказывали большее стимулирующее действие на удлинение побегов нестандартных саженцев при сравнении со стандартными (в

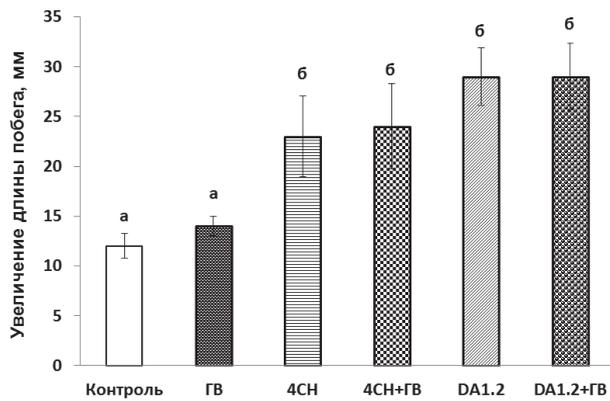
первом случае прирост побегов в длину под влиянием обработки был в 2,5 раза больше, чем в контроле, а во втором – не более чем в полтора раза).

При обработке сеянцев сосны препаратами обоих штаммов бактерий масса побегов и корней увеличилась по сравнению с контролем (рис. 3). Гуматы не влияли на накопление корневой массы, но увеличивали массу побегов при применении отдельно или в сочетании с любым штаммом бактерий. Масса побегов растений, обработанных любым штаммом в сочетании с ГВ была больше, чем у растений, обработанных только соответствующими штаммами.

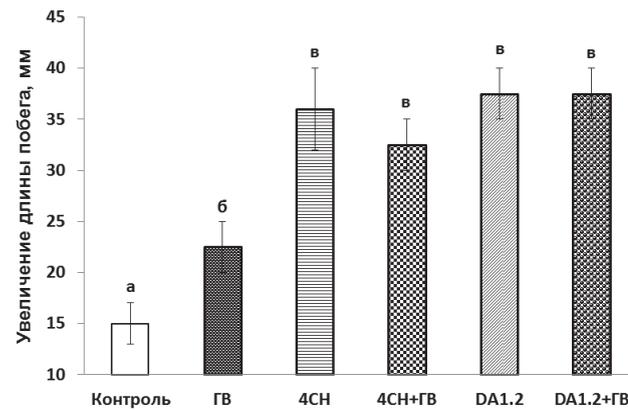
Бактериальная обработка сеянцев сосны, пересаженных за три года до настоящих экспериментов, ускоряла удлинение их побегов по сравнению с контрольными растениями (рис. 4). Скорость удлинения побегов растений, обработанных ГВ, не отличалась от таковой в контроле, а при сочетании *Pseudomonas* sp. 4СН и ГВ увеличение длины побегов было значительно больше, чем у растений, обработанных только ГВ.



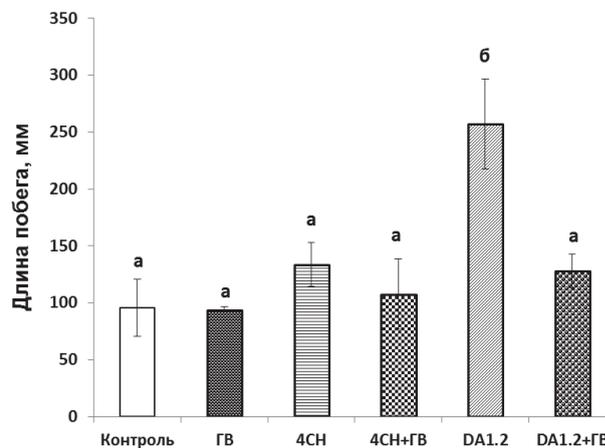
**Рис. 3.** Сухая масса корней (А) и побегов (Б) 2-летних сеянцев сосны, отобранных после окончания роста сеянцев в текущем году, обработанные бактериальной взвесью *Pseudomonas* sp. 4CH, *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4CH + ГВ и DA1.2 + ГВ).  $n = 10$ . Смысл буквенных обозначений см. рис. 1



**Рис. 4.** Увеличение длины побега (усредненные значения для главного и боковых побегов) 3-летних сеянцев сосны через 4 месяца после трехкратного полива суспензией бактерий *Pseudomonas* sp. 4CH, *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4CH + ГВ и DA1.2 + ГВ).  $n = 10$ . Смысл буквенных обозначений см. рис. 1



**Рис. 5.** Увеличение длины побега (усредненные значения для главного и боковых побегов) 4-летних сеянцев сосны через 4 месяца после трехкратного полива взвесью бактерий *Pseudomonas* sp. 4CH, *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4CH + ГВ и DA1.2 + ГВ).  $n = 10$ . Смысл буквенных обозначений см. рис. 1



**Рис. 6.** Длина побегов растений тополя после полива бактериальной взвесью *Pseudomonas* sp. 4CH, *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4CH + ГВ и DA1.2 + ГВ).  $n = 6$ . Смысл буквенных обозначений см. рис. 1

Содержание флавоноидов, хлорофилла и индекс азотистого баланса (NBI) растений тополя после полива суспензиями бактерий *Pseudomonas* sp. (4СН), *Pseudomonas protegens* DA1.2 и гуминовыми веществами (ГВ), используемыми отдельно или в комбинации (4СН + ГВ и DA1.2 + ГВ). Средние значения. Смысл буквенных индексов см. рис. 1

|            | Контроль                 | ГВ                       | 4СН                      | 4СН + ГВ                 | DA1.2                    | DA1.2 + ГВ               |
|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Флавоноиды | 1,81 ± 0,03 <sup>a</sup> | 1,83 ± 0,02 <sup>a</sup> | 1,76 ± 0,05 <sup>a</sup> | 1,83 ± 0,05 <sup>a</sup> | 1,81 ± 0,05 <sup>a</sup> | 1,82 ± 0,03 <sup>a</sup> |
| Хлорофилл  | 28,4 ± 1,0 <sup>a</sup>  | 34,9 ± 3,5 <sup>b</sup>  | 27,3 ± 1,9 <sup>a</sup>  | 25,0 ± 1,3 <sup>a</sup>  | 26,2 ± 0,8 <sup>a</sup>  | 26,1 ± 1,6 <sup>a</sup>  |
| NBI        | 16,1 ± 0,7 <sup>a</sup>  | 19,2 ± 2,2 <sup>b</sup>  | 15,6 ± 1,1 <sup>a</sup>  | 13,9 ± 0,9 <sup>a</sup>  | 14,7 ± 0,7 <sup>a</sup>  | 14,6 ± 1,0 <sup>a</sup>  |

Обработка 4-летних сеянцев бактериями и ГВ по отдельности и в комплексе ускоряла удлинение их побегов (рис. 5). Однако эффект ГВ, применяемых отдельно, был значительно ниже, чем эффект бактериальной обработки, применяемой отдельно или в сочетании с ГВ.

Статистически значимое увеличение длины побегов растений тополя при сравнении с контролем было обнаружено лишь при их обработке только *P. protegens* DA1.2 (рис. 6).

Ни один из вариантов обработки не привел к увеличению содержания флавоноидов в растениях тополя. Содержание хлорофилла и индекса баланса азота увеличивался только при обработке растений ГВ (табл. 2).

### Обсуждение результатов

Нам удалось продемонстрировать, что обработка препаратами *Pseudomonas* sp. 4СН, и *P. protegens* DA1.2 увеличивала удлинение побегов сосны (рис. 1–2, 4–5). Кроме того, у растений, обработанных этими бактериями, масса побегов и корней была больше при сравнении с контролем (необработанные препаратами растения) (рис. 3). Использование микроорганизмов для увеличения роста и продуктивности растений является важной биотехнологией, применяемой в сельском хозяйстве [20]. За последние десятилетия значительно увеличилось использование PGPR для получения стабильного урожая сельскохозяйственных культур [21]. Однако сведений об их воздействии на деревья значительно меньше, чем об их влиянии на травянистые растения. Наши данные согласуются с результатами исследований, в которых было показано усиление роста саженцев деревьев под влиянием ризосферных микробов для оптимизации лесного хозяйства [11]. Инокуляция сеянцев *Pinus taeda* бактериями вида *B. subtilis* увеличивала биомассу корней и побегов [22]. В условиях питомника рост побегов и корней дерева *Swietenia macrophylla* также стимулировали бактерии ряда видов бацилл [23].

В настоящих экспериментах влияние бактерий можно объяснить способностью используемых штам-

мов синтезировать ауксины, в том числе ИУК, их нитрогеназной активностью и способностью растворять фосфаты (табл. 1). Известно, что ауксины стимулируют увеличение размера клеток [24], а продукция ИУК этими бактериальными штаммами была обнаружена в настоящем (табл. 1) и предыдущих [14] экспериментах. Способность PGPR синтезировать ауксины считается одним из важнейших механизмов, с помощью которых микробы регулируют рост растений [1]. Увеличение биомассы корней, обнаруженное в настоящих экспериментах, согласуется с данными других исследователей. Так, инокуляция штаммов *Azospirillum brasilense* и *Pseudomonas geniculata* увеличивала длину и массу корней льна *Linum usitatissimum* [8]. Стимуляция роста корней бактериями обеспечивает увеличение поглощения воды и питательных веществ, тем самым способствуя росту растений [8]. Увеличение длины и массы побегов и корней, обнаруженное в настоящих опытах, служит показателем улучшения качества посадочного материала [25], необходимого для успешного лесовосстановления с целью смягчения реакции на изменения климата и улавливания углекислого газа [4].

Увеличение длины побегов было наибольшим у 2-летних сеянцев сосны, пересаженных непосредственно перед настоящими экспериментами (около 45–70 мм (рис. 1) против не более 35 мм у более зрелых растений (рис. 4, 5)). Бактериальные препараты были наиболее эффективны на 4-летних сеянцах сосны, высаженных за 2 года до настоящих опытов. При этом обработка обоими штаммами бактерий приводила к увеличению длины побегов в 2,5 раза по сравнению с контролем (рис. 5). Бактериальные обработки были менее эффективны на недавно пересаженных растениях (рис. 1): они приводили только к увеличению длины побегов примерно в 1,5 раза по сравнению с контролем в случае *P. protegens* DA1.2, тогда как у растений, обработанных *Pseudomonas* sp. 4СН, скорость удлинения побегов 2-летних сеянцев сосны была близка к контролю. В большинстве случаев *P. protegens* DA1.2 были более эффективны, чем *Pseudomonas* sp. 4СН. Бактериальные препараты сти-

мулировали удлинение побегов не только стандартных, но и отстающих в росте нестандартных саженцев сосны, причем их рост-стимулирующее действие на отстающие в росте саженцы было более заметным по сравнению со стандартными растениями (рис. 2). Таким образом, эффективность действия бактерий на удлинение побегов зависела от вида микроорганизмов, но также возраста и габитуса растений.

Бактериальная обработка растений тополя была менее эффективной, чем в случае с растениями сосны, и только обработка *P. protegens* DA1.2 приводила к статистически значимому увеличению длины побегов тополя при сравнении с контролем (рис. 6).

Эффект от обработки ГВ был ниже, чем от бактериальных обработок, когда каждая применялась отдельно. Гуматы увеличивали биомассу побегов, но не корней (рис. 3). Это можно объяснить наличием в гуматах цитокининоподобных веществ [26]; причем известно, что они стимулируют рост побегов и тормозят рост корней [27]. Наши данные согласуются с сообщениями об увеличении скорости роста апельсиновых и виноградных деревьев под влиянием гуматов [9] и об ускорении роста каучуконосного посадочного материала при внекорневой подкормке гуминовой кислотой [11].

Аддитивный эффект комбинации бактерий и ГВ был менее выражен, чем в предыдущих опытах с травянистыми растениями [14]. Тем не менее, побеги 2-летних растений сосны, обработанные при их пересадке, имели в конце вегетации больший вес в случае сочетания ГВ как с *P. protegens* DA1.2, так и с *Pseudomonas* sp. 4СН при сравнении с соответствующими бактериальными обработками, если их применять по отдельности. Таким образом, сочетание ГВ и этих бактерий можно рекомендовать для использования при пересадке растений сосны.

ГВ повышали концентрацию хлорофилла и NBI (индекс баланса азота) [17] в листьях тополя (табл. 2). Гуминовые вещества стимулировали поглощение нитратов корнями и их накопление в листьях кукурузы [28]. В наших предыдущих опытах мы обнаружили повышенное накопление общего азота в побегах растений пшеницы, получавших органоминеральные удобрения в сочетании с гуматами [1]. В состав молекулы хлорофилла входит азот, что делает доступность этого элемента важным фактором формирования фотосинтетического аппарата. Увеличение NBI и хлорофилла в листьях растений тополя, обработанных ГВ, вероятно, способствует усилению фотосинтеза и улучшению накопления углерода растениями [29].

Чтобы увеличить производство саженцев деревьев, питомники в настоящее время используют большое количество удобрений, которые могут привести к загрязнению окружающей среды [30]. Кроме того, эта технология позволяет получать отдельные деревья,

несбалансированные по размеру и более подверженные заражению фитопатогенными грибами [25]. Бактерии и гуминовые вещества могут быть важны для питания растений благодаря увеличению поглощения азота и фосфора растениями без добавления избыточного количества удобрений.

Результаты наших исследований показывают, что совместное использование бактерий и гуминовых веществ повышает качество древесного посадочного материала для лесовосстановления, которое является средством увеличения секвестрации углерода. Комбинация бактерий и гуминовых веществ может работать лучше, чем каждый из этих препаратов по отдельности.

### Заключение

Впервые было изучено совместное действие бактерий и гуматов на рост саженцев деревьев. Наши исследования показали способность бактериальных препаратов ускорять рост побегов растений тополя и сосны. *P. protegens* DA1.2 оказался более эффективным, чем штамм 4СН, что указывает на перспективы дальнейшего поиска более эффективных штаммов. Обработка растений гуминовыми веществами увеличивала индекс баланса азота и содержание хлорофилла в листьях проростков тополя, что, вероятно, увеличивает запас углерода за счет усиления фотосинтеза. Кроме того, сочетание ГВ с *P. protegens* DA1.2 увеличивало накопление биомассы побегов недавно пересаженных растений сосны, что свидетельствует о возможности использования этой комбинации при пересадке растений. Бактериальные препараты оказывали сильное стимулирующее действие на отстающие в росте саженцы сосны, что позволяет рекомендовать их применение как способ улучшения качества посадочного материала с целью лесовосстановления и ускорения процессов секвестрации парниковых газов.

Стадия саженцев считается очень важной фазой для дальнейшего успешного роста лесонасаждений. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования для подтверждения долгосрочного положительного влияния гуматов и бактерий на поведение деревьев в естественных условиях. Изучение влияния инокуляции ризосферы саженцев других древесных пород различными штаммами бактерий и обработки их гуматами необходимо для поиска эффективной комбинации для достижения успешного лесовосстановления как средства повышения секвестрации углерода древесными растениями в различных климатических условиях. Тем не менее, данные, полученные в настоящем исследовании, демонстрируют многообещающие перспективы и целесообразность совместного исследования бактериальных и гуминовых препаратов для лесовосстановления и депонирования углерода древесными растениями.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Программа создания и функционирования карбонового полигона на терри-

тории Республики Башкортостан “Евразийский карбоновый полигон” на 2022–2023 годы» (Номер для публикации: FEUR-2022-0001).

## Литература

### Список русскоязычной литературы

1. Назаров АМ, Гараньков ИН, Туктарова ИО, Салманова ЭР, Архипова ТН, Иванов ИИ, Феоктистова АВ, Простякова ЗГ, Кудоярова ГР. Гормональный баланс и рост побегов растений пшеницы (*Triticum durum* Desf.) под влиянием гуматов натрия гранулированного органического удобрения. Сельскохозяйственная биол. 2020;55:945-55.

### Общий список литературы/References

1. Nazarov AM, Garankov IN, Tuktarova IO, Salmanova ER, Arkhipova TN, Ivanov II, Feoktistov AV, Prostiakova ZG, Kudoyarova GR. [Hormone balance and shoot growth in wheat (*Triticum durum* Desf.) plants as influenced by sodium humates of the granulated organic fertilizer]. Selskokhoziaystvennaya Biologiya. 2020;55:945-55. (In Russ.)
2. Pearson TRH, Brown S, Murray L, Sidman G. Greenhouse gas emissions from tropical forest degradation: an underestimated source. Carbon Balance Manage. 2017;12:3.
3. Grant M, Domke GM, Oswalt SN, Walters BF, Morin RS. Tree planting has the potential to increase carbon sequestration capacity of forests in the United States. Proc Natl Acad Sci USA. 2020;117(40):24649-51.
4. Fargione J, Haase DL, Burney OT, Kildisheva OA, Edge G, Cook-Patton SC, Chapman T, Rempel A, Hurteau MD, Davis KT, Dobrowski S, Enebak S, De La Torre R, Bhuta AAR, Cubbage F, Kittler B, Zhang D, Guldin RW. Challenges to the reforestation pipeline in the United States. Front For Glob Change. 2021;4:629198.
5. Moser RL, Windmuller-Campione MA, Russell MB. Natural resource manager perceptions of forest carbon management and carbon market participation in Minnesota. Forests. 2022;13:1949.
6. Xu Y, Zhang Y, Li Y, Li G, Liu D, Zhao M, Cai N. Growth promotion of Yunnan pine early seedlings in response to foliar application of IAA and IBA. Int J Mol Sci. 2012;13:6507-20.
7. Shah A, Nazari M, Antar M, Msimbira LA, Naamala J, Lyu D, Rabileh M, Zajonc J, Smith DL. PGPR in agriculture: a sustainable approach to increasing climate change resilience. Front Sustain Food Syst. 2021;5:667546.
8. Omer AM, Osman MS, Badawy AA. Inoculation with *Azospirillum brasilense* and/or *Pseudomonas geniculata* reinforces flax (*Linum usitatissimum*) growth by improving physiological activities under saline soil conditions. Bot Stud. 2022;63:15.
9. Alva AK, Obreza TA. By-product iron-humate increases tree growth and fruit production of orange and grapefruit. Hort Sci. 1998;33:1.
10. Cahyo AN, Ardika R, Saputra J, Wijaya T. Acceleration on the growth of rubber planting materials by using foliar application of humic acid. J Agric Sci. 2014;36:112-9.
11. Chaiya L, Gavinlertvatana P, Teaumroong N, Pathom-aree W, Chaiyasen A, Sungthong R, Lumyong S. Enhancing Teak (*Tectona grandis*) seedling growth by rhizosphere microbes: a sustainable way to optimize agroforestry. Microorganisms. 2021;9:1990.
12. Shinde S, Cumming JR, Collart FR, Noirot PH, Larsen PE. *Pseudomonas fluorescens* transportome is linked to strain-specific plant growth promotion in aspen seedlings under nutrient stress. Front Plant Sci. 2017;8:348.
13. Noirot-Gros M-F, Shinde SV, Akins C, Johnson JL, Zerbs S, Wilton R, Kemner KM, Noirot P, Babnigg G. Functional imaging of microbial interactions with tree roots using a microfluidics setup. Front Plant Sci. 2020;11:408.
14. Feoktistova A, Bakaeva M, Timergalin M, Chetverikova D, Kendjieva A, Rameev T, Hkudaygulov G, Nazarov A, Kudoyarova G, Chetverikov S. Effects of humic substances on the growth of *Pseudomonas plecoglossicida* 2,4-d and wheat plants inoculated with this strain. Microorganisms. 2022;10:1066.
15. Chetverikov SP, Chetverikova DV, Bakaeva MD, Kenjieva AA, Starikov SN, Sultangazin ZR. A promising herbicide-resistant bacterial strain of *Pseudomonas protegens* for stimulation of the growth of agricultural cereal grains Appl Biochem Microbiol. 2021;57:110-6.
16. Bakaeva M, Kuzina E, Vysotskaya L, Kudoyarova G, Arkhipova T, Rafikova G, Chetverikov S, Korshunova T, Chetverikova D, Loginov O.

- Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminants. *Plants*. 2020; 9:379.
17. Zhang K, Liu X, Ma Y, Zhang R, Cao Q, Zhu Y, Cao W, Tian Y. A comparative assessment of measures of leaf nitrogen in rice using two leaf-clip meters. *Sensors*. 2019;20:175.
  18. Veselov DS, Sharipova GV, Veselov SU, Kudoyarova GR. The effects of NaCl treatment on water relations, growth and ABA content in barley cultivars differing in drought tolerance. *J Plant Growth Regul*. 2008;27:380-6.
  19. Arkhipova T, Martynenko E, Sharipova G, Kuzmina L, Ivanov I, Garipova M, Kudoyarova G. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on the content of abscisic acid and salt resistance of wheat plants. *Plants*. 2020;9:1429.
  20. Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, Subramanian S, Smith DL. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Front Plant Sci*. 2018;9:1473.
  21. Das AJ, Kumar M, Kumar R. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): An alternative of chemical fertilizer for sustainable environment friendly agriculture. *Res J Agric Forest Sci*. 2013;1:21-3.
  22. Shekhawat S, Alessa N, Rathore H, Sharma K. A green approach—cost optimization for a manufacturing supply chain with MFIFO warehouse dispatching policy and inspection policy. *Sustainability*. 2022;14:14664.
  23. Trujillo-Elisea FI, Labrín-Sotomayor NY, Becerra-Lucio PA, Becerra-Lucio AA, Martínez-Heredia JE, Chávez-Bárcenas AT, Peña-Ramírez YJ. Plant growth and microbiota structural effects of Rhizobacteria inoculation on mahogany (*Swietenia macrophylla* King [Meliaceae]) under nursery conditions. *Forests*. 2022;13:1742.
  24. Spaepen S, Vanderleyden, J. Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Har. Perspec. Biol*. 2011;3.
  25. Otero M, Salcedo I, Txarterina K, González-Murua C, Duñabeitia MK. Quality assessment of *Pinus radiata* production under sustainable nursery management based on compost tea. *J Plant Nutr Soil Sci*. 2019;1-11.
  26. Pizzeghello D, Francioso O, Ertani A, Muscolo A, Nardi S. Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of different humic substances. *J Geochem Explor*. 2013;129:70-5.
  27. Werner T, Nehnevajova E, Köllmer I, Novak O, Strnad M, Krämer U, Schmölling T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Cell* 2010;22:3905-20.
  28. Quag giotti S, Ruperti B, Pizzeghello D, Francioso O, Tugnoli V, Nardi S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *J Exp Bot*. 2004;55:803-13.
  29. Hebat-Allah AA, Alshammari SO, Abd El-Sadek ME, Kenawy SKM, Badawy AA. The promotive effect of putrescine on growth, biochemical constituents, and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under water stress. *Agriculture*. 2023;13:587.
  30. Aslantaş R, Çakmakçı R, Şahin F. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae*. 2007;111(4):371-7.