

Санкт-Петербургский государственный университет

ИСКАНДИРОВА Юлия Ринадовна

Выпускная квалификационная работа

***Влияние биоугля и растительных остатков на доступность азота растениям ячменя
при избытке кадмия в почве***

Уровень образования:

Направление *06.03.02 «Почвоведение»*

Основная образовательная программа *СВ.5022.2016 «Почвоведение»*

Научный руководитель:

Старший преподаватель кафедры агрохимии,

Кандидат биологических наук, доцент,

Банкина Татьяна Александровна

Рецензент:

Старший научный сотрудник отдела физики,

физико-химии и биофизики почв,

ФГБНУ Агрофизический

научно-исследовательский институт,

Кандидат биологических наук,

Рижия Елена Яновна

Санкт-Петербург

2020

Оглавление

Введение.....	3
1. Обзор литературы	4
1.1 Экотоксикологическая характеристика кадмия в агроэкосистемах.	4
1.1.1 Содержание кадмия в литосфере, гидросфере, атмосфере и почвах.....	4
1.1.2 ПДК кадмия в почвах	5
1.1.3 Распределение и миграция кадмия по профилю почвы	6
1.1.4 Антропогенные пути попадания кадмия в почву и в растения.....	7
1.2 Влияние биоугля и растительных остатков на содержание минеральных форм азота в почве.....	8
1.2.1 Влияние бобово-злаковых растительных остатков на содержание аммония и нитрата в почве	8
1.2.2 Древесный биоуголь. Состав, свойства, влияние на процессы аммонификации и нитрификации	10
1.2.3 Влияние биоугля и бобово-злаковых растительных остатков на биологическую активность почв	13
1.3 Действие кадмия на биохимические процессы в растениях	15
1.3.1 Накопление кадмия в растениях в зависимости от сорта, вида, семейства и концентраций элемента	15
1.3.2 Поступление и локализация кадмия в растениях	15
1.3.3 Влияние кадмия на рост и развитие растений. Внешние признаки токсикоза растений при высокой концентрации кадмия.....	16
1.3.4 Изменение биохимических процессов в растении под воздействием кадмия	16
1.3.5 Накопление кадмия растениями. Фоновые уровни и ПДК кадмия для растений	18
1.4 Механизмы устойчивости растений к кадмию	18
1.5 Влияние кадмия на минерализационные процессы в почвах	19

1.5.1	Влияние кадмия на интенсивность процессов аммонификации и нитрификации и поступление азота в растения.....	19
1.5.2	Влияние кадмия на биологическую активность почв	21
1.6	Теоретические основы снижения ингибирующего действия кадмия при применении биоугля и растительных остатков.....	22
2.	Материалы и методы исследования.....	23
2.1	Материалы исследования	23
2.2	Методы исследования.....	26
2.3	Постановка и проведение лабораторного опыта	27
3.	Результаты и обсуждения	27
3.1	Влияние биоугля и растительных остатков на накопление аммония и нитрата в почве, загрязненной кадмием	27
3.2	Влияние биоугля и растительных остатков на длину проростков, биомассу и вынос азота растениями ячменя.....	33
3.3	Влияние биоугля и растительных остатков на концентрацию кадмия в растениях ячменя и транслокацию кадмия в растения из почвы.....	42
	Заключение.....	45
	Выводы.....	47
	Рекомендации.....	48
	Публикации по теме ВКР	49
	Список использованной литературы:.....	50

Введение

Кадмий (Cd (II)) признан одним из самых токсичных тяжелых металлов в окружающей среде, поскольку он обладает высокой мобильностью и является токсичным для организмов даже при низких концентрациях (Masood et al., 2012; Mwamba et al., 2016; Hu et al., 2017, Chen, Q. et al., 2018).

Концентрация кадмия возрастает в каждом последующем звене пищевой цепи, что делает его особенно опасным для высших организмов. Кадмий оказывает неблагоприятное влияние на широкий спектр биологических процессов у человека (Cuypers et al., 2010; Hu et al., 2016). Его хроническое воздействие приводит к отложению в почках, почечной недостаточности, болезням легких и вызывает хрупкость костей (Bernard, 2008; R. Khanam et al., 2020). Ярким примером является болезнь «Итай-Итай» в Японии, вызванная чрезмерным потреблением Cd через загрязненные пищевые продукты (Huang et al., 2009).

Загрязнение кадмием окружающей среды и непосредственно почвы происходит за счёт отходов горнодобывающей промышленности и металлургии, отопительных систем, мусоросжигательных заводов, выхлопных газов автомобилей, цементных заводов и при внесении загрязненных фосфатных удобрений (Gallego et al., 2012).

Особый интерес представляет собой аккумуляция кадмия в почве, поскольку на почве замыкаются процессы обмена веществ между земной корой, гидросферой, атмосферой и биосферой, в которой важное место отводят почвенным микроорганизмам (Добровольский и др., 1985). Ключевое положение, занимаемое почвой в наземных экосистемах, делает необходимыми разработку и внедрение в производство приёмов по уменьшению токсичного действия кадмия на растения.

Как известно, действие любого токсичного фактора на растение проявляется, прежде всего, в нарушении азотного питания и, соответственно, снижении продуктивности культур. Одним из способов, стимулирующих азотное питание растений, является внесение в почву растительных остатков бобовых и злаковых культур. Их минерализация приводит к увеличению в почве аммония и нитрата, что улучшает питание растений азотом. Кроме того, резко возрастает биомасса микроорганизмов, способных осмотрофно поглощать кадмий и выводить его из зоны действия корневых систем. Биоуголь, являясь сильным адсорбентом, может снизить отрицательное действие кадмия на питание растений азотом.

В связи с этим цель работы состояла в выяснении влияния биоугля и растительных остатков на доступность азота растениям ячменя при избытке кадмия в почве.

Задачи исследования:

1. Определить влияние биоугля и растительных остатков на содержание аммония и нитрата в почве в условиях стресса, вызванного кадмием.
2. Установить влияние биоугля и растительных остатков на формирование биомассы ячменя при загрязнении почвы кадмием.
3. Определить влияние биоугля и растительных остатков на усвоение азота растениями ячменя на почве, загрязненной кадмием.
4. Установить влияние биоугля и растительных остатков на концентрацию и вынос кадмия растениями ячменя.

1. Обзор литературы

1.1 Экотоксикологическая характеристика кадмия в агроэкосистемах.

1.1.1 Содержание кадмия в литосфере, гидросфере, атмосфере и почвах

Кадмий (Cd) - это элемент с атомной массой 112,41 имеет на внешнем энергетическом уровне атома 2 электрона, поэтому в природных условиях чаще всего встречаются двухвалентные соединения. По кларку содержание кадмия в литосфере составляет $1,3 \cdot 10^{-5}$ %, в земной коре - 0,13 мг/кг, в почвах - 0,5 мг/кг. Основными минералами-концентраторами Cd являются сфалерит, в котором содержится до 5% Cd и смитсонит – до 4,55 %. В магматических породах кадмий в основном находится в виде изоморфных примесей в темноцветных магнезиально-железистых минералах с содержанием примерно 0,15 мг/кг, в сланцевых глинах-0,3 мг/кг, в терригенных глинах – $3 \cdot 10^{-5}$ %. Основная масса кадмия в процессе породообразования рассеивается в сульфидных минералах меди, железа, цинка. Возможно накопление кадмия в сульфидах и карбонатах осадочного происхождения, а также в фосфоритах и марганцевых рудах (Руэце К., 1986). Средняя концентрация кадмия в подземных водах составляет 0,15 мкг/л. В водах морей - 0,00011 мг/л. в океанических водах- 0,015-0,118 мкг/л, природный уровень в воздухе - 0,002 мкг/м³ (Петрухин В.А., 1986). Среднее содержание кадмия в почвах мира колеблется от $5 \cdot 10^{-5}$ до $4,5 \cdot 10^{-4}$, в почвах России- от $1 \cdot 10^{-6}$ до $7 \cdot 10^{-5}$ % (Бокрис Дж.О.М., 1982). Известно, что средние данные по содержанию кадмия в почвах фоновых районов мира почти не отличаются друг от друга (Петрухин В.А., 1986) (табл.1).

Таблица 1. Среднее содержание кадмия в почвах фоновых районов мира, мг/кг.

Зарубежная Европа	0,01-1,40 (0,22)
Европейская территория России	0,01-0,97 (0,28)
Зарубежная Азия	0,04-0,40 (0,12)
Азиатская территория России	0,028-3,2 (0,26)
Северная Америка	0,05-0,56 (0,19)
Южная Африка	0,08-0,81 (0,25)
Австралия, Новая Зеландия	0,15-0,20 (0,17)

В некоторых районах промышленно развитых стран наблюдается высокое содержание кадмия в почве. Так, например, в городских почвах Гамбурга содержание кадмия составляло 18мг/кг, что значительно выше фонового уровня (Bot. Fennici, 1986).

1.1.2 ПДК кадмия в почвах

Существуют определенные ПДК в условиях загрязнения тяжелыми металлами, в и частности кадмием, при которых гарантируется получение гигиенически пригодной для человека и животных растительной продукции. По данным Федеральной службы здоровья в Берлине предельно допустимая концентрация кадмия в почвах не должна превышать 10 мг/кг (при фоновой в пределах 0,01-3 мг/кг) (Руэце К., 1986). Для почв Франции и Германии – 3 мг/кг при фоновом содержании – 0,2 мг/кг (Staiger К., 1986).

В России почвы группируют по валовому содержанию и содержанию подвижных форм химических элементов-загрязнителей. Эти группы почв строятся по принципу арифметической прогрессии. Нулевой группой является фон, который представляет собой величину кларка (Виноградов А. П., 1957). Первая группа по загрязненности - 2 кларка, и т.д. По этой классификации содержание кадмия для первой группы по загрязненности составляет 2 мг/кг, второй – 8 мг/кг, третьей - 32 мг/кг.

Однако нормирование загрязнения почв тяжёлыми металлами затруднено, поскольку степень загрязнения пищевой цепи и растений находятся в слабой корреляционной связи с валовым содержанием тяжёлых металлов в почве. Из этого следует, что при установлении ПДК необходимо использовать не валовое количество тяжёлых металлов, а содержание их подвижных соединений, зависящее от почвенных разностей, механического состава, степени

окультуренности и других агроэкологических показателей почв. Наибольшая корреляция наблюдалась между поступлением тяжелых металлов в растение и содержанием их в водной вытяжке из почв (Черных М.А. и Ладонин В.Ф., 1995). Для кадмия экологически допустимое количество ежегодного поступления в агродерново-подзолистую среднесуглинистую почву – 0,5 кг/га (Туев Н. А., 1999).

1.1.3 Распределение и миграция кадмия по профилю почвы

Кадмий, который выпадает на поверхность почвы, как правило, концентрируется в слое 2-5 см и подразделяется на фиксируемую и мигрирующую части. Частично трансформируются миграционные формы. Соединения кадмия переводятся в более подвижные соединения. В почвах с промывным режимом кадмий в составе растворов и твердых частиц мигрирует. Опыты в лизиметрах показали, что с глубиной концентрация кадмия понижается и на глубине 90 см она в 5-6 раз меньше. В твердой фазе почвы содержание кадмия выходит на фоновый уровень на глубине 30-40 см. При высоком содержании в почвенном растворе водорастворимых органических соединений повышается миграционная способность кадмия в результате образования устойчивых органоминеральных комплексов. В этом виде кадмий может мигрировать за пределы почвенного профиля (Елпатьевский П. В., 1985). В лабораторных опытах скорость перемещения кадмия при низких его концентрациях в незагрязненных почвах была весьма ограниченной: в 500-770 раз меньше, чем воды (Christensen Т. М., 1985). В кислых неокulturенных и слабоокulturенных почвах встречается больше подвижных соединений кадмия. Увеличивается мобильность кадмия при совместном внесении с другими тяжелыми металлами, например с Zn и Pb (Калпутонова Е. В., 1983).

Значительное количество кадмия связывается с твердой фазой почвы и лишь некоторое количество (< 10%) находится в растворимой и обменных формах от общего количества. В модельных опытах на черноземе и дерново-подзолистых почвах необменно поглощалось примерно 20-22% кадмия, причем количество фиксируемых прочно соединений со временем возрастало (Первунина Р. И., 1985). В почве интенсивно протекает процесс связывания кадмия с гумусовыми кислотами (Добровольский В. В., 1983).

Содержание доступных форм кадмия зависит от pH в большей степени, чем от механического состава почвы. Кадмий подвижен в кислых почвах с pH < 5,5. В слабокислых и нейтральных почвах с pH от 5,5 до 7,5, щелочных и сильно щелочных с pH от 7,5 до 9,5-слабоподвижен (Руэце К., 1986).

Таким образом, кадмий в почве находится в двух состояниях: валовом и подвижном. Миграционная способность кадмия зависит от определенных условий среды и увеличивается при промывном водном режиме почв, высоком содержании водорастворимых органических соединений, содержании других тяжелых металлов в почве, высоком содержании гумусовых кислот, низком содержании гумуса и глины, при значении рН меньше 5,5 и при увеличении кислотности физиологических удобрений.

1.1.4 Антропогенные пути попадания кадмия в почву и в растения

Загрязнение сельскохозяйственных угодий кадмием осуществляется несколькими путями:

1. Атмосферное поступление кадмия на подстилающую поверхность с сухими и мокрыми выпадениями, количество которых в среднем за год составляет 0,2-9 кг/км². В фоновых районах промышленно развитых регионов (Западная Европа, Северная Америка) потоки кадмия могут существенно изменить уровни содержания его в почвах (Голов В. И., 1986). Выпадающий из атмосферы кадмий в составе техногенных выбросов находится в основном в виде труднорастворимых соединений. Но при этом потенциальная опасность высвобождения кадмия и включение его в естественный круговорот сохраняется в случае изменения природных условий. Например, выпадение кислотных дождей, что является обычным в районах загрязнения окружающей среды кадмием, увеличивает его мобильность в почве. При этом его поступление в растения увеличивается (Mc Fee, 1980).

Кадмий, выпадающий с частицами пыли проникает в растения не только через почву, но и аэральным путем. Проведенные с помощью меченных атомов кадмия исследования в сельскохозяйственных районах Дании показали, что этот металл, попадающий из воздуха на поверхность растений, составляет 20-50% (0,03-0,04 мкг/кг сухого вещества) от общего содержания в растениях (Howmand M. F, 1983). На поверхности опушенных или шероховатых сложных листьев с большой пластинкой накапливается больше частиц кадмия, чем на гладких простых листьях с восковым налетом (Vetter H., 1984). Большая часть попавшего этого металла на поверхность листьев переходит в физиологически неактивное состояние: кадмий фиксируется восковым налетом или прочно связывается клеточными стенками эпидермиса. Некоторое количество поступает внутрь тканей. Предполагают, что внутрь листьев кадмий поступает путем пассивной диффузии и активного транспорта, т.е. переходит в водный раствор (Steve P., 1985).

2. Вторым источником поступления кадмия в почву является осадки городских сточных вод. В сельском хозяйстве стран ЕЭС используется 30-40% их общего объема, который накопился на станции аэрации осадка (Покровская С.Ф., 1987).

3. Минеральные удобрения, преимущественно фосфорные. С внесением фосфорных удобрений концентрация кадмия увеличивается. В Германии со средними дозами фосфорных удобрений в год поступает 3-5 г кадмия на 1 га (Steve P., 1985). В результате обобщенных исследований некоторые ученые сделали вывод о том, что удобрения, содержащие больше $8 \cdot 10^{-4}$ % Cd, являются потенциальными загрязнителями (Бокрис Дж.О.М., 1982).

Таким образом, кадмий поступает в почву в больших концентрациях из таких источников как: атмосфера, осадки городских сточных вод и фосфорные удобрения. Очевидно, что поступление больших количеств этого элемента из вышеперечисленных источников в почву и растения происходит вследствие антропогенной деятельности человека. Наибольшее содержание кадмия находится на территориях промышленно-развитых регионов и близлежащих. Это коренным образом может изменить уровень содержания кадмия в почвах и растениях.

1.2 Влияние биоугля и растительных остатков на содержание минеральных форм азота в почве

1.2.1 Влияние бобово-злаковых растительных остатков на содержание аммония и нитрата в почве

Аммонификация – основной процесс минерализации азотсодержащих органических соединений. Этому процессу подвержены белки и их производные – пептиды и аминокислоты; нуклеиновые кислоты и их производные – пуриновые и пиримидиновые основания, мочевина, мочевая кислота, азотсодержащий полисахарид хитин и гумусовые вещества. Процесс аммонификации носит универсальный характер и осуществляется многими микроорганизмами в широком диапазоне условий, за исключением мест с очень жарким и сухим климатом. Минерализацию азотсодержащих органических соединений могут производить как аэробные, так и анаэробные бактерии, грибы, актиномицеты. Особенно активны представители рода *Bacillus* (*Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*), рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*), рода *Clostridium* (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium putrificus*), *Proteus vulgaris* и др.

Наиболее динамичным звеном в цикле азота является аммонификация белков. При внеклеточных превращениях конечным продуктом служат аминокислоты, их накопление в почве – один из показателей её биологической активности. В процессе участвуют протеазы как микроорганизмов, так и растений.

Процесс аммонификации неспецифичен. Его осуществляет самая многочисленная группа почвенного микронаселения. Она представлена полифагами, большинство из которых способно потреблять самые разнообразные вещества, часто предпочитая сахара белкам. Аммонифицирующая микрофлора обильно заселяет ризосферу и ризоплан. Развитие этих микроорганизмов в почве усиливается после заправки сидератов, компостов и навоза.

Заключительный этап минерализации азотсодержащих органических соединений – нитрификация. Нитрификация — это окисление аммония в нитрат. Часть аммиачного азота, образовавшегося в результате процесса аммонификации, окисляется в нитраты. Именно в этой форме азот преимущественно используется большинством высших растений. В этой же форме он подвергается значительным потерям из почвы – вымывается в грунтовые воды и денитрифицируется. Нитрификация проходит в два этапа: окисление аммиака в нитриты и окисление нитритов в нитраты.

Процесс осуществляется нитрозными (*Nitrosomonas*) и нитратными (*Nitrobacter*) бактериями. Нитрификаторы — облигатные аэробы – окислители. Оптимум pH – 6-8. Исследования показали, что важнейшими нитрификаторами в почвах сельскохозяйственных угодий являются виды рода *Nitrosolobus*. Бактерии строго специализированы: нитрозные окисляют аммиак и представляют субстрат для бактерий, окисляющих нитрит (Банкина Т. А., 2002).

Поскольку процессы аммонификации и нитрификации напрямую связаны с жизнедеятельностью микроорганизмов, а растительные остатки являются основной энергетической пищей для микроредобионтов, то при внесении их в почву наблюдается стимуляция микробиологических процессов, и, как следствие, увеличение содержания аммония и нитрата в почве.

Биоуголь содержит некоторое количество ядовитых веществ: смолы, альдегиды, кетоны, фурфурол, сложные эфиры, и др. (Wijaya M., 2019), которые отрицательно действуют на процессы аммонификации и нитрификации. Однако биоуголь является хорошим сорбентом и, вследствие этого, может выводить значительные количества кадмия из сферы действия корневых систем, улучшая азотное питание растений.

1.2.2 Древесный биоуголь. Состав, свойства, влияние на процессы аммонификации и нитрификации

- Состав и свойства биоугля.

Древесный биоуголь - форма древесного угля, состоящая из стабильных соединений углерода и полученная в результате низкокислородного пиролиза при температуре 300-1000 °С.

Биоуголь имеет высокую пористость, рН выше нейтрального и большую удельную площадь поверхности (Glaser и др., 2002; Downie и др., 2009). Биоуголь считается очень устойчивым к биологическому разложению вследствие повышенной химической сопротивляемости, обусловленной его ароматичностью (Baldock and Smernik, 2002).

Точный структурный и химический состав, включая поверхностную химию, зависит от сочетания типа исходного сырья и условий пиролиза (главным образом температуры). Эти же параметры играют ключевую роль в определении размера частиц и размера пор (макро, мезо и микропор). Более грубый и более стойкий биоуголь производится путем пиролиза древесного сырья. Так, например, с повышением температуры пиролиза у биоугля усложняется поверхностная структура, уменьшаются ароматичность и количество функциональных групп, а полярность напротив – увеличивается (L. Liu et. al., 2020). Примечательно, что в образцах биоугля, полученных при низкой температуре, адсорбция в основном обусловлена электростатическими взаимодействиями, тогда как в их высокотемпературных аналогах адсорбция обусловлена также водородными связями и π - π -взаимодействиями с участием функциональных групп на поверхности биоугля (L. Liu et. al., 2020).

В таблице 2 наглядно представлен элементный состав (С, N, С: N, Р, К, доступный Р и минеральный N) и диапазоны рН для биоугля в зависимости от того, какие исходные материалы (древесина, зеленые отходы, растительные остатки, подстилка, ореховая скорлупа) были использованы и при каких условиях пиролиза (350-500°С) велось производство биоугля (Chan и Хи, 2009).

Таблица 2. Элементный состав (C, N, C: N, P, K, доступный P и минеральный N) и диапазоны pH для биоугля в зависимости от исходного сырья и используемого вида пиролиза (адаптированы из Chan и Xu, 2009).

		pH	C, г/кг	N, г/кг	N (NO ₃ ⁻ +NH ₄ ⁺), мг/кг	C:N	P, г/кг	P, доступный, г/кг	K, г/кг
Значения	о т	6,2	172	1,7	0,0	7	0,2	0,015	1,0
	д о	9,6	905	78,2	2,0	500	73,0	11,6	58
Среднее значение		8,1	543	22,3	-	61	23,7	-	24,3

Структурный и химический состав биоугля очень гетерогенен, за счёт чего биоуголь может потенциально оказывать воздействие на ряд почвенных свойств, включая pH, пористость, объёмную плотность и влагоудерживающую способность (Glaser и др., 2002; Chan и др., 2007). Кроме того, биоуголь сорбирует ионы из почвенного раствора, путём сочетания электростатических комплексообразующих и капиллярных сил на их поверхности и в порах (L. Liu et. al., 2020) за счёт чего может потенциально уменьшиться выщелачивание питательных веществ из почвы (Lehmann и др., 2003) и доступность ионов почвенным микроорганизмам.

Считается, что высокогетерогенная химия поверхности и реакционная способность биоугля обусловлены присутствием гетероатомов. Преимущественно гетероатомами являются H, O, N, P и S, находящиеся в ароматических кольцах (Bourke и др., 2007).

Одним из основных факторов, который играет ключевую роль в создании присущей биоуглю структуре, является температура пиролиза. С возрастанием температуры пиролиза в биоугле увеличивается доля ароматического углерода из-за конверсии алкильных и О-алкильных радикалов до арильных (Baldock and Smernik, 2002; Demirbas, 2004) и относительного увеличения потерь летучих веществ (сначала воды, затем углеводородов, паров смол, H₂, CO и CO₂). Затем при температуре около 330°C за счет аморфной фазы углерода полиароматические листы графена начинают расти в сторону, и в конечном итоге сливаются. Выше 600°C начинает доминировать такой процесс, как карбонизация. Карбонизация включает в себя удаление большинства оставшихся неуглеродных атомов и,

как следствие, относительное увеличение содержания углерода, которое может составлять до 90% (по массе) в биоугле из древесного сырья (Antal and Gronli, 2003; Demirbas, 2004).

Таким образом, как проиллюстрировано на рисунке 1, на выходе образуется биоуголь с общепринятой моделью строения, где биоуглеродная частица состоит из двух основных структурных единиц: уложенных в стопки кристаллических графеновых листов и случайно упорядоченных аморфных ароматических структур.

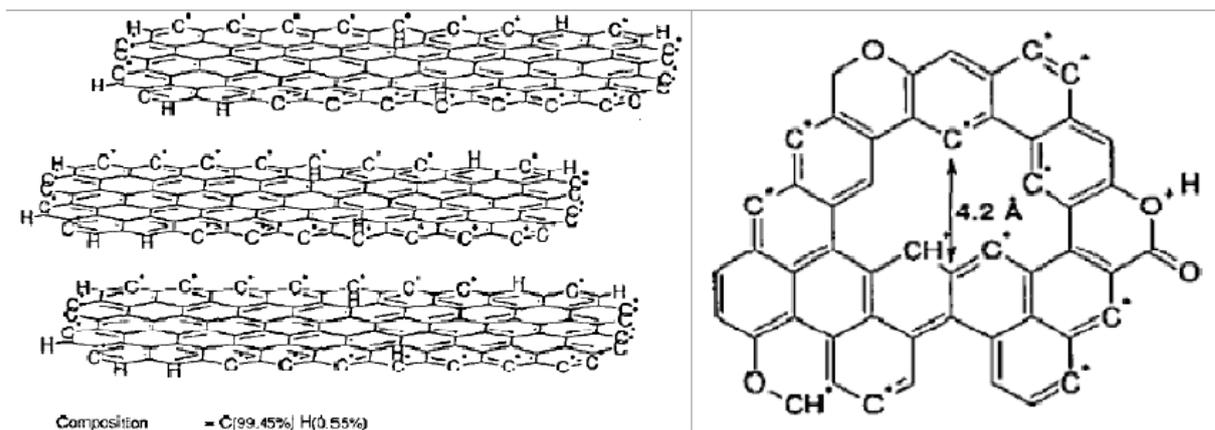


Рисунок 1. Предполагаемая структура древесного угля (Bourke и др., 2007). Слева представлена модель микрокристаллической графитовой структуры, а справа – ароматическая структура, содержащая свободные радикалы.

- Влияние биоугля на процессы аммонификации и нитрификации.

Нитрификация включает в себя два этапа: окисление аммиака в нитриты и окисление нитритов до нитратов.

Преимущественно используется большинством высших растений, а также вымывается из почвы и денитрифицируется азот именно в нитратной форме.

Основным источником нитратов в ненарушенных почвах и агроландшафтах является органическое вещество, которое, минерализуясь, обеспечивает постоянное образование нитратов. Скорость минерализации органического вещества зависит от совокупности факторов, в частности состава органического вещества, степени и характера землепользования.

Однако может образовываться избыточное количество нитратов, которое вызывает ненормальный ход функционирования природных экосистем и живых организмов. Как следствие происходит снижение биологической ценности продукции, что создает потенциальную опасность для здоровья человека и животных (О.А. Соколов 1992).

Аммонификация – это основной процесс минерализации азотсодержащих органических соединений. Этому процессу подвержены белки и их производные.

Аммонийный азот, как образующийся в процессе аммонификации, так и внесенный с удобрениями, не является в почве стабильным соединением. Он окисляется до азотной кислоты под влиянием нитрифицирующих бактерий. Часть аммиака (4—18%) при нитрификации превращается в закись азота (N_2O). В газообразном состоянии аммиак может теряться в значительных количествах лишь в щелочных почвах.

Внесение биоугля приводит к значительному снижению содержания аммонийного и нитратного азота в почве. Этот эффект может достигаться за счёт способности биоугля к сорбции питательных веществ и органического вещества (Poucke et al., 2019), тем самым происходит снижение скорости минерализации органических удобрений. Кроме этого, биоуголь может приводить к потерям аммония в газообразной форме за счет щелочной реакции, (рН биоугля древесного – 7.8 – 8.2).

1.2.3 Влияние биоугля и бобово-злаковых растительных остатков на биологическую активность почв

• Влияние биоугля на биологическую активность почв

Основным показателем биологической активности почв, который напрямую связан с поведением почвенных микроорганизмов, является активность почвенных ферментов (He et al., 2019; Bandara et al., 2020).

Несмотря на то, что влияние биоугля на почвенных микроорганизмов недостаточно изучено (Wu H., 2020), показано, что биоуголь может оказывать положительное влияние на активность уреазы, сахарозы и каталазы (Chen H. et al., 2020). Усиление уреазной, сахарозной и каталазной активностей почвы, в которую был внесён биоуголь, может быть связано с содержанием минеральных и питательных веществ на поверхности биоугля, пористостью и площадью поверхности биоугля, которые в совокупности обеспечивают благоприятную среду обитания для микроорганизмов: с достаточной аэрацией, водой и питательными веществами (Chen H. et al., 2020). Как следствие, благоприятные условия могут быть причиной улучшения роста и размножения почвенных микроорганизмов, тем самым способствуя ферментативной деятельности почвы (Gul et al., 2015; Bandara et al., 2020).

Во многих исследованиях с биоуглем рост урожайности был связан с развитием микоризы (Warnock и др., 2007). Биоуголь положительно влияет на её распространение (Ishii

и Kadoya, 1994). В исследовании со спаржей было показано, что адсорбция биоуглем аллелопатических соединений, таких как кумариновая, кофейная и феруловая кислоты, может усиливать колонизацию микоризы, что, как следствие, увеличивает резистентность растения к заболеваниям и способствует улучшению роста и развития растения (Elmer и Pignatello, 2011). Изменения в популяциях микроорганизмов могут напрямую влиять на болезни растений (Graber et al., 2010).

В частицах биоугля могут содержаться вещества с бактерицидными и фунгицидными свойствами, например, кресолы и формальдегиды, фурфурол, сложные эфиры, и др. (Wijaya M., 2019), однако они быстро распадаются в почве, что сводит вероятность долгосрочного эффекта таких веществ на микробиоту к минимуму (Zackrisson и др., 1996).

•Влияние бобово-злаковых растительных остатков на биологическую активность почв

Энергетической пищей для микроорганизмов в основном является растительное органическое вещество, которое стимулирует микробиологические процессы в почве (Довбан К. И., 1990).

При минерализации растительных остатков микроорганизмы, работая преимущественно в аэробных и термофильных условиях, превращают различные неразложившиеся органические материалы в более зрелые и стабильные органические вещества (De Bertoldi et al., 1983; Bohacz, 2018), что в свою очередь способствует улучшению физических, химических и микробиологических свойств почвы (Stavi et al., 2016; Pane, C. et al., 2019).

Создание оптимальных условий компостирования растительных остатков способствует росту и развитию микроорганизмов (Onwosi et al., 2017). Так за счёт внесения растительных остатков может стимулироваться рост численности таких групп почвенных микроорганизмов, как аммонификаторы, клубеньковые бактерии, споровые бактерии, актиномицеты и плесневые грибы (López-González et al., 2015; Ventorino et al., 2016), что впоследствии может отразиться на улучшении ряда показателей биологической активности почвы (Buyer et al., 2010), например, увеличении накопления в почве свободных аминокислот (Boulter et al., 2002).

Таким образом, использование растительных остатков значительно стимулирует биологическую активность почвы, за счёт увеличения численности почвенных микроорганизмов, что приводит к интенсификации минерализационных процессов, в

результате чего улучшаются физико-химические свойства почвы, увеличивается содержание гумуса и азота в почве, и, как следствие, биомасса сельскохозяйственных культур.

1.3 Действие кадмия на биохимические процессы в растениях

1.3.1 Накопление кадмия в растениях в зависимости от сорта, вида, семейства и концентраций элемента

Учёными предпринимались попытки найти закономерности накопления кадмия растениями в зависимости от их принадлежности к семейству, биологических особенностей вида, сорта. Так была создана классификация растений по способности накапливать кадмий в природных условиях (Kuboі T. et. al., 1986). К первой группе относятся растения, которые накапливают низкие концентрации кадмия – семейство бобовые (Leguminosae), ко второй группе – растения, содержащие умеренное количество этого элемента – семейства злаковых (Graminae), лилейные (Lileaceae), тыквенные (Cucurbitaceae) и зонтичные (Umbelliferae). К третьей группе относятся растения, которые способны накапливать большое количество кадмия – маревые (Chenopodiaceae), крестоцветные (Cruciferae), паслёновые (Solanaceae) и сложноцветные (Compositae). Но, так как существует видовая и сортовая специфичность к накоплению кадмия, эта классификация относительна.

Определили, что при концентрации 2 мг/кг кадмия в почве, в зелёной массе кукурузы, люцерны и клубнях картофеля содержание кадмия увеличивается в 1,5-3 раза, а продуктивность этих культур снижается на 30-71% (максимально у кукурузы) (Penrose D.M. et. al., 2001).

Таким образом, кадмий накапливается растениями в различных концентрациях в зависимости от их вида, семейства и биологических особенностей сорта каждого растения. Растения, способные накапливать большие концентрации этого элемента считаются устойчивыми, и чем больше они накапливают кадмий, тем более они устойчивы. Следовательно, от вида, сорта и семейства, к которому принадлежит растение, напрямую зависит устойчивость растения к кадмию.

1.3.2 Поступление и локализация кадмия в растениях

К настоящему времени установлено, что поступление ионов кадмия в растения осуществляется с помощью ионтранспортных систем (транспортных белков, ионных каналов), обеспечивающих поглощение необходимых растению элементов, таких как железо, цинк, кальций и др. (Hall, Williams, 2003; Clemens, 2006; Krämer et al., 2007). Кадмий в растениях распределяется неравномерно. Причиной тому является существование нескольких барьеров, препятствующих поступлению кадмия с восходящим током веществ.

Поэтому в корнях кадмий содержится в наибольшем количестве, на втором месте по содержанию этого элемента являются листья. Наименьшее количество кадмия в растении приходится на генеративные органы (Ильин В. Б., 1980). Например, при выращивании перца на нейтральных почвах с внесением 0,02 мкг/г подвижного кадмия плоды его накапливали - 0,01 мкг/г, а листья - 0,4 мкг/г. При содержании кадмия в почве 22 мкг/г содержание этого металла в плодах перца колебалось от 0,01 до 4,7 мкг/г, а в листьях от 4,0 до 52,0 мкг/г (Ильин В. Б., 1986). В опыте с кукурузой при изменении концентрации кадмия в почве от 21,5 до 29,82 мг/кг содержание его в зерне не изменялось и составляло не больше 0,01 мг/кг (Barcelo J., 1985).

Таким образом, в результате того, что существуют определенные барьеры, препятствующие движению кадмия с восходящим током, а корень является основным фильтром, мешающим поступлению кадмия в надземные органы растений, накопление кадмия в растении происходит неравномерно. Самое большое количество накапливается в корнях, на втором месте – листья, на третьем – генеративные органы.

1.3.3 Влияние кадмия на рост и развитие растений. Внешние признаки токсикоза растений при высокой концентрации кадмия

Наиболее явным признаком токсичного действия кадмия на растение является покраснение листьев, стеблей, черешков (Ильин В.Б. и др., 1985). К другим внешним симптомам токсического действия кадмия на растение относятся: хлороз, некроз, торможение роста (Chen, Q. et al., 2018). Происходят следующие морфологические изменения: мелколистность, морщинистость, сокращение размера листовых пластинок и междоузлий растений. Также высокие концентрации кадмия в почве тормозят прорастание семян и снижают выживаемость сеянцев и саженцев лесных пород (Покровская С.Ф., 1986). Влияние на минеральное питание растений следующее: кадмий сильно подавляет поглощение калия корнями, ухудшается транспорт железа в наземные органы, а также кадмий может являться антагонистом цинка (Kuboї T. et. al. 1986, Vujtas U., 1981).

Таким образом, высокая концентрация кадмия приводит к снижению полученного урожая или даже к полной его гибели (Chen, Q. et al., 2018).

1.3.4 Изменение биохимических процессов в растении под воздействием кадмия

Действие кадмия в больших количествах различно: он оказывает денатурирующее действие на метаболически важные белки, блокирует ферментные системы и

фотосинтетический аппарат растений, разрушает целостность клеточных стенок, клеточный обмен и иногда вызывает гибель клеток.

Многими исследователями, изучающими симптомы проявления токсичности тяжелых металлов у сельскохозяйственных культур, было замечено, что кадмий в 2-20 раз токсичнее для растений по сравнению с другими тяжелыми металлами в равных дозах (Гаральчук Ж. З., 1994).

В растениях кадмий поглощается корнями и переносится дальше в надземные органы растения, где он изменяет мембранный потенциал, вызывает ферментативную активность, ускоряет выработку активных форм кислорода (АФК) и перекисное окисление липидов мембран (Chen, Q. et al., 2018). Кроме того, эти эффекты приводят к блокировке клеточного цикла или повреждению ДНК, снижению фотосинтеза, ухудшению усвоения питательных веществ, нарушению углеродной фиксации и негативно влияют на физиологические параметры растений.

Кадмий оказывает сильное токсичное влияние на биохимические процессы, происходящие в клетках растений. Нарушается фотосинтетическая деятельность, происходит денатурация метаболически важных белков, снижается количество незаменимых аминокислот, ингибируется активность важнейших ферментов и многое другое.

Кадмий на 50% инактивирует большинство ферментов при концентрации 10^{-6} — 10^{-4} М. Например, было обнаружено действие кадмия на малатдегидрогеназу, глутаматдегидрогеназу у *Phaseolus vulgaris*, причём ингибирующее действие замечено было при концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ — $3 \cdot 10^{-5}$ М (Косицин А.В., 1986).

При повышенных концентрациях кадмия (3 мг/кг и более), в белке снижается содержание незаменимых аминокислот, таких как лизин, треонин, валин, метионин (Гармаш Н.Ю., 1985).

Концентрация хлорофилла в листьях снижается под воздействием кадмия в результате ингибирования процессов биосинтеза ферментов и их разрушения. При концентрации 10-50 мкМ кадмия ингибируется 5-аминолевулиновая кислота и активность её дегидротазы (Гаральчук Ж.З., 1994). Вероятно, это происходит вследствие реакции с SH-группами в активном центре фермента. Также повышение концентрации кадмия ингибирует активность карбоангидразы (Гаральчук Ж.З., 1994).

При концентрации кадмия 30-120 мкМ начинается повреждение фотосистем, причём фотосистема-2 повреждается в большей степени по сравнению с фотосистемой-1 (Гаральчук

Ж.З., 1994), и далее происходит снижение фотосинтетической активности мезофильных клеток листьев.

Из всего вышеперечисленного можно сделать вывод, что кадмий негативно воздействует на биохимические процессы в клетках растений. Нарушается фотосинтетическая деятельность растения, происходит денатурация белков, снижается количество незаменимых аминокислот, ингибируется активность важнейших ферментов и многое другое. Как следствие, может наблюдаться снижение биомассы растений, изменение качественного состава важнейших веществ и даже смерть культурных растений.

1.3.5 Накопление кадмия растениями. Фоновые уровни и ПДК кадмия для растений

Накопление тяжелых металлов в сельскохозяйственных культурах является функцией сложных взаимодействий почвы, растений и факторов окружающей среды, которые влияют на их фитодоступность (Fei Chen et al., 2007). На доступность Cd для растений влияют, например, рН, тип и гранулометрический состав почвы, содержание органических веществ, а также обогащённость элементами питания (D. P. Olivek, 1996). Виды растений и сорта генетически различаются по способности поглощать и перемещать тяжелые металлы в съедобные части. Межвидовая разница в концентрации Cd в побегах была отмечена для некоторых экономически важных культур (John, 1973). Внутривидовые изменения концентрации Cd также были обнаружены у сои (Bogess et al., 1978), кукурузы (Hinesly et al., 1982) и салата (Thomas, G.M. and Harrison, H.C., 1991).

В целом концентрация кадмия в зрелых растениях колеблется от 0,05 до 0,2 мг на кг сухой биомассы (Vetter H., 1984). Среднее значение ПДК для зерна злаков составляет примерно - 0,013-0,22 мг/кг, в травах - 0,07-0,27 мг/кг, в бобовых культурах - 0,08-0,28 мг/кг сухой массы (Кабата-Пендиас А., 1989).

В растениях ячменя определены приблизительные предельно допустимые концентрации (ПДК) для зерна. Однако в зерне концентрация кадмия значительно меньше, чем содержится во всей биомассе взрослого побега (Ю. В. Батова, 2012), следовательно, ПДК для биомассы всего взрослого растения больше.

1.4 **Механизмы устойчивости растений к кадмию**

Механизмы устойчивости растений к токсическому действию тяжёлых металлов делятся на два типа: внутренние и внешние. Внутренние механизмы включают в себя: иммобилизацию ионов в клеточной стенке, детоксикацию поступившего в растение тяжёлого

металла с помощью его хелатирования фитохелатинами и органическими кислотами, белками (фитоалексинами, металлотионинами), компартментации в вакуоли, появления устойчивых к тяжёлым металлам ферментов и замене чувствительных к тяжёлым металлам метаболических цепей на более устойчивые (Гаральчук Ж. З., 1994).

К внешним механизмам можно отнести процессы, препятствующие поступлению тяжелого металла в растение. Эти механизмы реализуются как за счет корневых выделений растений и специальных приёмов, разрабатываемых агрохимической наукой, таких, как известкование почв, внесение органических и минеральных удобрений, поддержание оптимального соотношения макро- и микроэлементов в почве, так и за счёт микроорганизмов (Добровольский Г.В., Гришина Л.А., 1985).

Корни растений и микроорганизмы способны выделять хелатирующие лиганды (органические кислоты, сахара, аминокислоты, пептиды, фенолы и т.п.) и ионы, которые предотвращают поступление тяжёлых металлов в растение.

1.5 Влияние кадмия на минерализационные процессы в почвах

1.5.1 Влияние кадмия на интенсивность процессов аммонификации и нитрификации и поступление азота в растения

Аммонификация – основной процесс минерализации азотсодержащих органических соединений. Этому процессу подвержены белки и их производные – пептиды и аминокислоты; нуклеиновые кислоты и их производные – пуриновые и пиримидиновые основания, мочевины, мочевая кислота, азотсодержащий полисахарид хитин и гумусовые вещества. Процесс аммонификации носит универсальный характер и осуществляется многими микроорганизмами в широком диапазоне условий, за исключением мест с очень жарким и сухим климатом. Минерализацию азотсодержащих органических соединений могут производить как аэробные, так и анаэробные бактерии, грибы, актиномицеты. Особенно активны представители рода *Bacillus* (*Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*), рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acroginosa*), рода *Clostridium* (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium putrificus*), *Proteus vulgaris* и др.

Наиболее динамичным звеном в цикле азота является аммонификация белков. При внеклеточных превращениях конечным продуктом служат аминокислоты, их накопление в почве – один из показателей её биологической активности. В процессе участвуют протеазы как микроорганизмов, так и растений (Банкина Т. А., 2002).

Деструкция в почве органических азотсодержащих соединений происходит по-разному. Белки животного происхождения минерализуются намного быстрее растительных. Такие метаболиты животных и растений, как мочевина, мочева и гиппуровая кислоты, аммонифицируются интенсивнее, чем более сложный по строению азотсодержащий полисахарид – хитин. Высокой резистентностью отличается гумус: разложение его отдельных фракций длится месяцами. В процессе аммонификации на ассимиляцию 1 г азота микроорганизмы потребляют 25 г углерода. Поэтому количество аммиака, освобождающееся в результате аммонификации, определяется не только общими запасами органического азота в почве, но и его качественным составом, в первую очередь содержанием углерода и азота. Если соотношение C:N шире, чем 20:1, то выделения аммиака при разложении такого азотсодержащего органического вещества не происходит, так как микрофлора использует аммиак гидролизуемых ею соединений для биосинтеза.

Степень гумусированности почвы, наличие в ней органических соединений оказывают решающее влияние на интенсивность процесса аммонификации. При содержании азота в органическом веществе разлагающейся растительной биомассы менее 1,5% азот будет полностью иммобилизован в клетках микроорганизмов. При более высоком содержании азота в минерализуемом субстрате (C:N менее 20) будет выделяться аммиак.

Процесс аммонификации развивается строго определенным образом: при увеличении интенсивности преобладают бактерии, в период максимального выделения аммония к бактериям присоединяются актиномицеты, при снижении интенсивности процесса развиваются грибы.

Аммонификация – биологический ферментативный процесс, который происходит под влиянием как эндо-, так и экзоферментов бактерий и грибов почвенной среды (Банкина Т. А., 2002).

Заключительный этап минерализации азотсодержащих органических соединений – нитрификация. Нитрификация—это превращение аммония в нитрат. Часть аммиачного азота, образовавшегося в результате процесса аммонификации, окисляется в нитраты. Именно в этой форме азот преимущественно используется большинством высших растений. В этой же форме он подвергается значительным потерям из почвы – вымывается в грунтовые воды и денитрифицируется. Нитрификация проходит в два этапа: окисление аммиака в нитриты и окисление нитритов в нитраты.

Процесс осуществляется нитрозными (*Nitrosomonas*) и нитратными (*Nitrobacter*) бактериями. Нитрификаторы — облигатные аэробы – окислители. Оптимум pH – 6-8.

Исследования показали, что важнейшими нитрификаторами в почвах сельскохозяйственных угодий являются виды рода *Nitrosolobus*. Бактерии строго специализированы: нитрозные окисляют аммиак и представляют субстрат для бактерий, окисляющих нитрит (Банкина Т. А., 2002).

При загрязнении почв кадмием наблюдается подавление микробной биомассы, включающей в себя общую массу водорослей, бактерий, грибов и простейших (J. Tang et al., 2019). Почвы с высокой микробной биомассой хорошо могут выполнять свои функции, имеют хорошее качество почвы и могут хранить и перерабатывать больше питательных веществ (Hu et al., 2014), таким образом, при сильном загрязнении кадмием наблюдается обратная ситуация, когда микробная биомасса гораздо хуже осуществляет процессы минерализации азотсодержащих органических соединений.

В то же время, происходит изменение структуры микробного сообщества и его разнообразия (J. Tang et al., 2019). Разнообразие микробных сообществ почвы очень богато (Griffiths et al., 2013; Sheik et al., 2012), но в почвах с сильным загрязнением, разнообразие может составлять только 1% от разнообразия микробного сообщества такой же почвы без загрязнения (Golebiewski et al., 2014). При загрязнении почв кадмием меняется структура микробного сообщества почвы (J. Tang et al., 2019), так, например, бактерии более чувствительны к загрязнению, чем археи (Li et al., 2017). Изменение структуры микробного сообщества из-за загрязнения кадмием может изменить скорость микробных процессов в почве (Liu et al., 2012; Yu et al., 2016). Так кадмий после двух недель инкубации подавил скорость нитрификации почвы до 80% от нормы (Khan et al., 2010).

В основе обеспечения растений азотным питанием лежат процессы минерализации азотсодержащих органических соединений, которые осуществляются за счёт жизнедеятельности микроорганизмов. При загрязнении почв кадмием происходит подавление микробной биомассы, изменение структуры микробного сообщества и его разнообразия, а также снижение ферментативной активности почвы, что в свою очередь подавляет процессы аммонификации и нитрификации, и как следствие, снижает интенсивность поступления азота в растения.

1.5.2 Влияние кадмия на биологическую активность почв

Биохимический распад органических соединений (минерализации) представляет собой цепь реакций, звеньями которой являются отдельные ферменты. Продукты определенных ферментативных реакций служат исходным субстратом для новой цепи биохимических процессов. Процессы разложения дают материал для синтеза новых химических соединений,

которые также подвергаются со временем разложению. Все эти биохимические ферментативные реакции происходят в почве одновременно и в целом представляют собой почвенный метаболизм. Таким образом, каталитическая активность почвы – один из основных показателей, которые участвуют в определении биологической активности почв.

В свою очередь, микроорганизмы являются каталитическими центрами, поставляющими в почвенную среду экзоферменты для осуществления всех биохимических почвенных процессов (Банкина Т. А., 2002).

При загрязнении почв кадмием наблюдается подавление микробной биомассы, включающей в себя общую массу водорослей, бактерий, грибов и простейших, что, как следствие, приводит к снижению ферментативной активности почвы (J. Tang et. al., 2019). Ферменты активно участвуют в биохимических реакциях, протекающих в почве (J. Tang et. al., 2019). Высокая ферментативная активность характеризует хорошее качество почвы, в то время как низкая активность может быть связана с токсичным действием кадмия на биологические процессы (Lebrun et. al., 2012). Так кадмий после двух недель инкубации снизил активность микробных ферментов: кислой фосфатазы и мочевины амидогидролазы, до 30,6% и 33,0% от нормы соответственно (Khan et. al., 2010). В тоже время, происходит изменение структуры микробного сообщества, которое может снижать скорость процессов, осуществляемых микропедобионтами, в почве (Liu et. al., 2012; Yu et. al., 2016).

Процессы жизнедеятельности микроорганизмов обеспечивают каталитическую активность почвы, которая в свою очередь служит наиболее важным показателем биологической активности почвы. Таким образом, подавление микробной биомассы, снижение скорости осуществляемых микроорганизмами процессов, наблюдаемое при загрязнении почв кадмием, сильно снижает активность микробных ферментов, и, как следствие, биологическую активность почвы.

1.6 Теоретические основы снижения ингибирующего действия кадмия при применении биоугля и растительных остатков

Остатки растений и животных, попадая в почву, подвергаются действию гидролитических ферментов, таких, как пептидазы, протеазы, карбогидразы, нуклеазы, липазы. При этом образуются либо промежуточные продукты гидролиза, либо конечные продукты минерализации. Часть этих соединений иммобилизуется растениями и микроорганизмами, а часть становится субстратом для других почвенных ферментов. В результате разложения таких высокомолекулярных веществ, как белки, целлюлоза, пептины или гумус, образуются свободные аминокислоты, простые и сложные сахара, фенолы,

органические кислоты. В почве они подвергаются различным превращениям, катализируемым окислительно-восстановительными ферментами (оксидоредуктазами). В результате образуются специфические гумусовые вещества (Банкина Т. А., 2002).

Таким образом, при минерализации растительных остатков образуется целый ряд органических соединений, которые способны хелатировать кадмий и тем самым уменьшать его доступность растениям и микроредобионтам. За счёт новообразованных гумусовых веществ могут улучшаться физические свойства почвы, что может создать более комфортные условия для роста и развития растений. Растительные остатки являются основным энергетическим субстратом для почвенных микроорганизмов, за счёт чего при внесении их в почву может происходить увеличение микробной биомассы, и, как следствие, увеличение осмотрофного поглощения кадмия, и его вывод из биологического круговорота.

Биоуголь способен выводить тяжёлые металлы из биологического круговорота за счёт присущих ему сорбционных свойств (Poucke et al., 2019). В оптимальных водных условиях адсорбционная емкость составляет 120 мг Cd/1г биоугля (Kolodynska, D., et al., 2012), 80 мг Zn/1г биоугля (Kolodynska, D., et al., 2012), 125 мг на 1г биоугля сообщалось о фосфоре (P) (Zhu, N., et al., 2016) и 115 мг серы (S) на 1г биоугля (Shang, G.F., et al., 2012). Таким образом, при поливе до 60-80% от полевой ёмкости в лабораторных условиях было обнаружено снижение содержания тяжелых металлов в почве на 50-90% (Park, J.H., et al., 2011; Puga, A.P., et al., 2015).

Таким образом, обзор литературы подтвердил наши предположения о возможном снижении токсичного действия кадмия на растения под влиянием биоугля и растительных остатков.

2. Материалы и методы исследования

2.1 Материалы

Для постановки лабораторного эксперимента был взят пахотный горизонт агродерново-подзолистой среднесуглинистой почвы, отобранный в Гатчинском районе Ленинградской области на территории Меньковского филиала Агрофизического научно-исследовательского института. Описание почвенного профиля исследуемой почвы представлено в таблице 1, агрохимическая характеристика пахотного горизонта – в таблице 2.

Таблица 1. Описание профиля исследуемой агродерново-подзолистой среднесуглинистая почвы, подстилаемой красноцветными девонскими песками.

Морфологическое строение и описание почвенного профиля							
Генетические горизонты, глубины залегания, см	Влажность	Цвет	Механический состав	Структура	Сложность и плотность	Новообразования и включения	Характер перехода в нижний горизонт
Р 0-30	Свежий	Серый	Средний суглинок	Мелкокомковатый	Рыхлый	Мелкие корни	Переход ясный по цвету, граница ровная
EL 30-40	Свежий	Серовато-палевый	Легкий суглинок ближе к супеси	Плитчатый	Уплотненный	Мелкие корни, отбеленные кварцевые зерна	Переход постепенный
BEL 40-72	Свежий	Буровато-палевый	Средний суглинок	Глыбистая, неясно-плитчатая	Плотный	Мелкие корни	Переход ясный по цвету и структуре, граница волнистая
BT 72-86	Свежий	Буровато-красновато-палевый	Средний суглинок, тяжелее предыдущего	Глыбисто-призматический	Плотный	Глинистые и глинисто-гумусовые кутаны	Переход ясный по цвету и структуре, граница волнистая
С 86-120	Свежий	Красновато-бурый	Супесь	Бесструктурный	Плотный	-	Дно разреза
Название почвы: агродерново-подзолистая среднесуглинистая среднепахотная (2)							
Почвообразующая и подстилающая породы: красноцветные девонские пески							

Таблица 2. Агрохимическая характеристика пахотного горизонта агродерново-подзолистой среднесуглинистой почвы.

pH _(H2O)	pH _(KCl)	C _{общ.} , %	N _{общ.} , %	C:N	N- NO ₃ , мг/кг	N- NH ₄ , мг/кг	НСП, мг/кг	P ₂ O ₅ , мг/кг	K ₂ O, мг/кг
5,90	5,10	2,05	0,13	15,77	11,20	3,50	5,20	136,00	65,00

Почва обладает слабокислой, близкой к нейтральной реакцией среды, средним содержанием общих азота и углерода, достаточным количеством минерального азота и калия, средней обеспеченностью фосфором. В почве доминируют процессы минерализации, на что указывает отношение С к N.

Действующие факторы – биоуголь и растительные остатки. Биоуголь получен из березы Карельского перешейка путем бескислородного пиролиза при температуре 450-500 градусов. Растительные остатки включали сухую зеленую биомассу клевера красного (*Trifolium pratense*) и тимopheевки (*Phleum pratense*). Элементный состав биоугля представлен в таблице 3, растительных остатков – в таблице 4.

Таблица 3. Элементный состав биоугля.

pH _(H2O)	C _{общ.} , %	N _{общ.} , %	H, %	N- NO ₃ , мг/кг	N- NH ₄ , мг/кг	P, мг/кг	K, мг/кг	Ca, мг/кг	Mg, мг/кг	Fe, мг/кг
7,9	88,3	0,5	2,8	0,0	4,0	7,8	79,6	4125,0	887,0	693,0

Поскольку биоуголь представляет собой инертную массу, состоящую из циклических и ароматических углеродных соединений, большую долю в элементном составе занимает углерод – 88,3%. Для биоуголя характерна щелочная реакция среды, которая объясняется повышенным содержанием кальция и магния. Общее содержание азота – 0,5%, находится по большей части в аммонийной форме, нитратная форма не представлена. Достаточно низкое содержание фосфора – 7,8 мг/кг, и калия – 79,6 мг/кг, так как почвы Карельского перешейка обеднены этими элементами. Увеличение содержания железа объясняется повышенным содержанием доступного двухвалентного железа в почвах Карельского перешейка, это, как известно, «железные ландшафты».

Таблица 4. Элементный состав растительных остатков, % на сухую массу

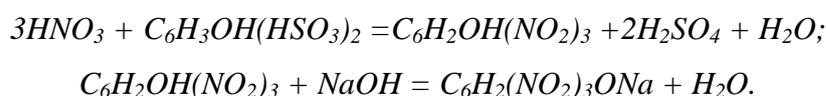
C:N	C	N	K ₂ O	CaO	MgO	P ₂ O ₅
21,4	40,12	1,84	1,92	1,51	0,42	0,65

Величина отношения С к N, при котором процессы иммобилизации сменяются на процессы минерализации, равна 23 (Банкина Т. А., 2002). В данном случае наблюдается равновесность процессов минерализации и иммобилизации с незначительным доминированием процессов минерализации, поскольку отношение С к N равно 21,4.

2.2 Методы

Определения нитратного и аммонийного азота проводились общепринятыми колориметрическими методами (Крейер К. Г. и др., 2005).

Нитрат извлекался из почвы 0,05%-ным водным раствором сульфата калия. Определение нитрата проводилось дисульфофеноловым методом, в основе которого лежит свойство азотной кислоты взаимодействовать с дисульфофеноловой кислотой с образованием тринитрофенола. Со щелочами (например, с NaOH) тринитрофенол образует соединения желтого цвета – пикраты (натрия):



Окрашенные растворы колориметрируют с синим светофильтром (длина волны 440 нм).

Поглощенный аммоний вытеснялся из почвы 0,1 н раствором хлорида калия. Образовавшийся хлорид аммония в щелочной среде дает с реактивом Несслера окрашенное в желтый цвет соединение йодистого меркураммония:



Для связывания в комплекс ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , вызывающих опалесценцию и мешающих определению аммония, прибавлялась сегнетова соль (К-На виннокислый). Интенсивность окраски определялась на фотоэлектроколориметре с использованием синего светофильтра (длина волны 440 нм).

Определение общего азота в растениях проводилось по общепринятому методу Йодельбауэра (Кьельдаля), суть которого заключается в сжигании навески растительного материала салицилсерной кислотой при нагревании.

Определение общего содержания кадмия в растениях проводилось методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией с предварительной пробоподготовкой (кислотной минерализацией). Метод атомно-абсорбционной

спектрометрии (ААС) основывается на том факте, что элементы в атомизированном состоянии поглощают свет при характеристической длине волны, переходя из основного состояния в возбужденное состояние. Количество поглощенной световой энергии пропорционально количеству атомов аналита на пути распространения излучения.

Кислотная минерализация, необходимая для перевода пробы из твердого состояния в жидкое и для разложения матрицы пробы, проводилась с использованием концентрированной азотной кислоты (HNO_3 конц.) и концентрированным пероксидом водорода (H_2O_2 конц.). Работа осуществлялась на приборе МГА-915.

2.3 Постановка и проведение лабораторного опыта

Лабораторный опыт включал 8 вариантов: контроль - чистая почва (П), почва + биоуголь (П+БУ), почва + растительные остатки (П+РО), и совместное внесение биоугля с растительными остатками (П+БУ+РО), как с кадмием, так и без него. Компостирование проведено в оптимальных гидротермических условиях в 3х кратной повторности в сосудах на 0,5 кг почвы.

Действующими веществами были биоуголь, бобово-злаковые растительные остатки и кадмий (CdCl_2). Биоуголь и бобово-злаковые растительные остатки, состоявшие из клевера и тимофеевки в равных отношениях, вносились в сосуды из расчета 3 г/кг сухой почвы. Кадмий вносился в почву в дозе 50 мг/кг, что выше ПДК в 10 раз.

Время компостирования почвы составило 3 недели.

В почве до компостирования и после компостирования было определено содержание аммония и нитрата и на основе полученных данных – нитрифицирующая способность почвы. После компостирования в сосуды были посеяны наклюнувшиеся семена ячменя финского сорта Потра 2016 года. В каждом сосуде было оставлено по 6 растений ячменя. В фазе «начало колошения» растения были убраны и высушены. Дальнейшие исследования осуществлялись с сухой биомассой растений: был определен вес сухой биомассы, общее содержание азота и кадмия в растениях.

3. Результаты и обсуждения

3.1 Влияние биоугля и растительных остатков на накопление аммония и нитрата в почве, загрязненной кадмием

Азотное питание растений определяется накоплением минеральных форм азота в почве, поскольку азот растениями усваивается преимущественно в аммонийной и нитратной формах.

Аммонификация – основной процесс минерализации азотсодержащих органических соединений. Этому процессу подвержены белки и их производные – пептиды и аминокислоты; нуклеиновые кислоты и их производные – пуриновые и пиримидиновые основания, мочевины, мочевая кислота, азотсодержащий полисахарид хитин и гумусовые вещества. Минерализацию азотсодержащих органических соединений могут производить как аэробные, так и анаэробные бактерии, грибы, актиномицеты. Особенно активны представители рода *Bacillus* (*Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*), рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas acruginosa*), рода *Clostridium* (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium putrificus*), *Proteus vulgaris* и др. На рисунке 1 представлено накопление аммонийной формы азота в почве, загрязненной кадмием.

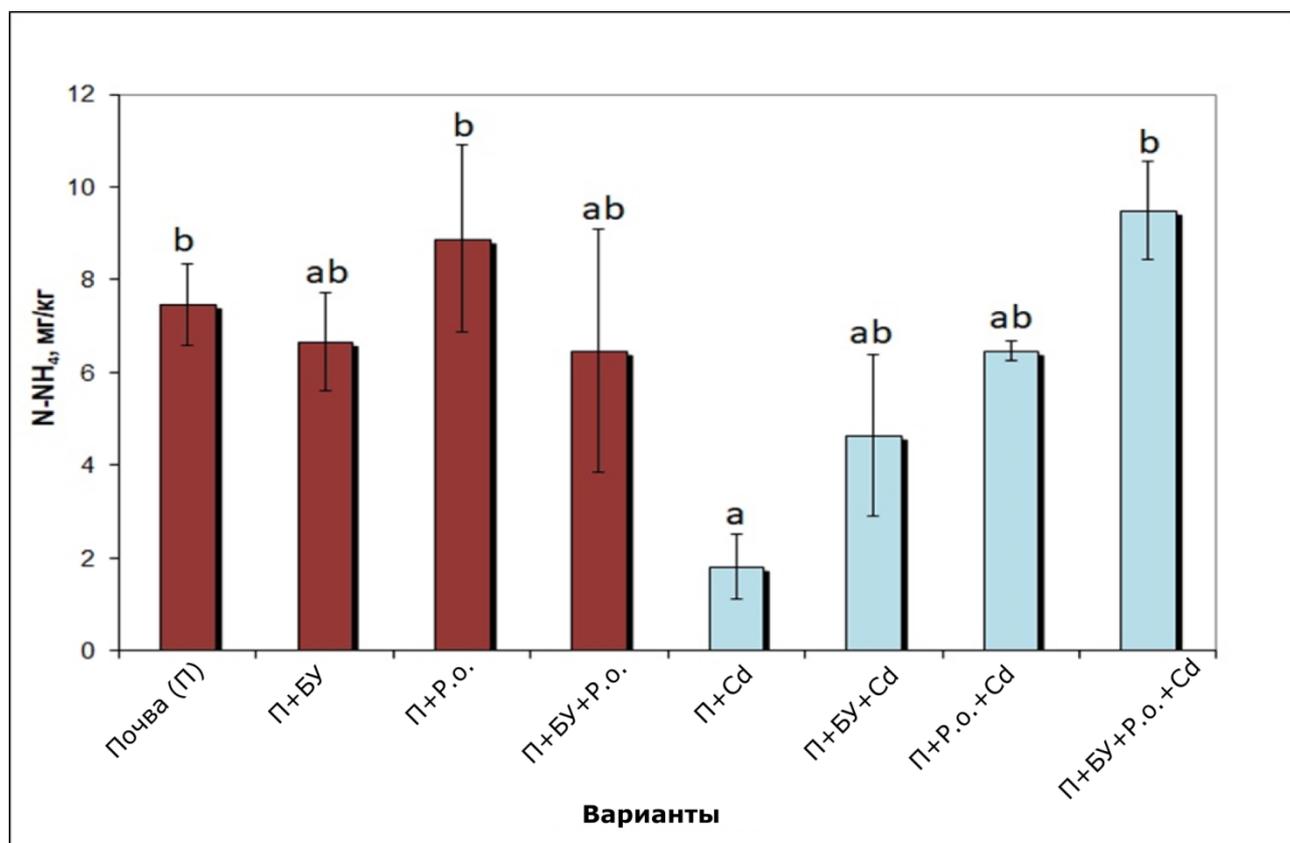


Рисунок 1. Влияние биоугля и растительных остатков на накопление N-NH₄ в почве, загрязненной кадмием, через 3 недели после компостирования, мг/кг

Красным цветом обозначены варианты без кадмия, голубым - варианты по фону кадмия.

Как можно видеть, накопление аммония в почве по фону кадмия происходило менее интенсивно, чем без кадмия. По фону кадмия биоуголь и растительные остатки одинаково увеличивали, практически в 2 раза, накопление аммония в почве по сравнению с фоном. Особого внимания заслуживает вариант совместного применения биоугля и растительных

остатков по фону кадмия, где ингибирующее действие кадмия на накопление аммония было снято.

Был рассчитан % ингибирования кадмием накопления N-NH₄ в почве при внесении биоугля и растительных остатков (Табл. 5).

Таблица 5. Влияние биоугля и растительных остатков на ингибирование кадмием накопления N-NH₄ в почве, %

Вариант	Без Cd, мг/кг	С Cd, мг/кг	% ингибирования
Почва (П)	7,47 b	1,82 a	74
П + БУ	6,67 ab	4,65 ab	35
П + Р. о.	8,89 b	6,47 ab	18
П + БУ + Р. о.	6,46 ab	9,50 b	не обнаружен

Установлено, что наибольший % ингибирования был обнаружен в почве без применения биопрепаратов, и составил 74%. Применение биоугля снижало токсичность кадмия в 2 раза по сравнению с фоном, а растительных остатков – в 4 раза. При совместном внесении биоугля и растительных остатков токсичное действие кадмия полностью ликвидировалось.

Таким образом, совместное внесение биоугля и растительных остатков имело наибольшее значение для снижения токсичного действия кадмия на накопление N-NH₄ в почве.

Нитрификация — это процесс окисление аммония в нитрат. Нитрификаторы — облигатные аэробы – окислители. Оптимум pH – 6-8. Процесс осуществляется нитрозными (Nitrosomonas) и нитратными (Nitrobacter) бактериями.

Способность почвы трансформировать аммоний в нитраты является одним из показателей её биологической активности. На рисунке 2 представлена диаграмма, демонстрирующая влияние биоугля и растительных остатков на накопление N-NO₃ в почве, загрязненной кадмием.

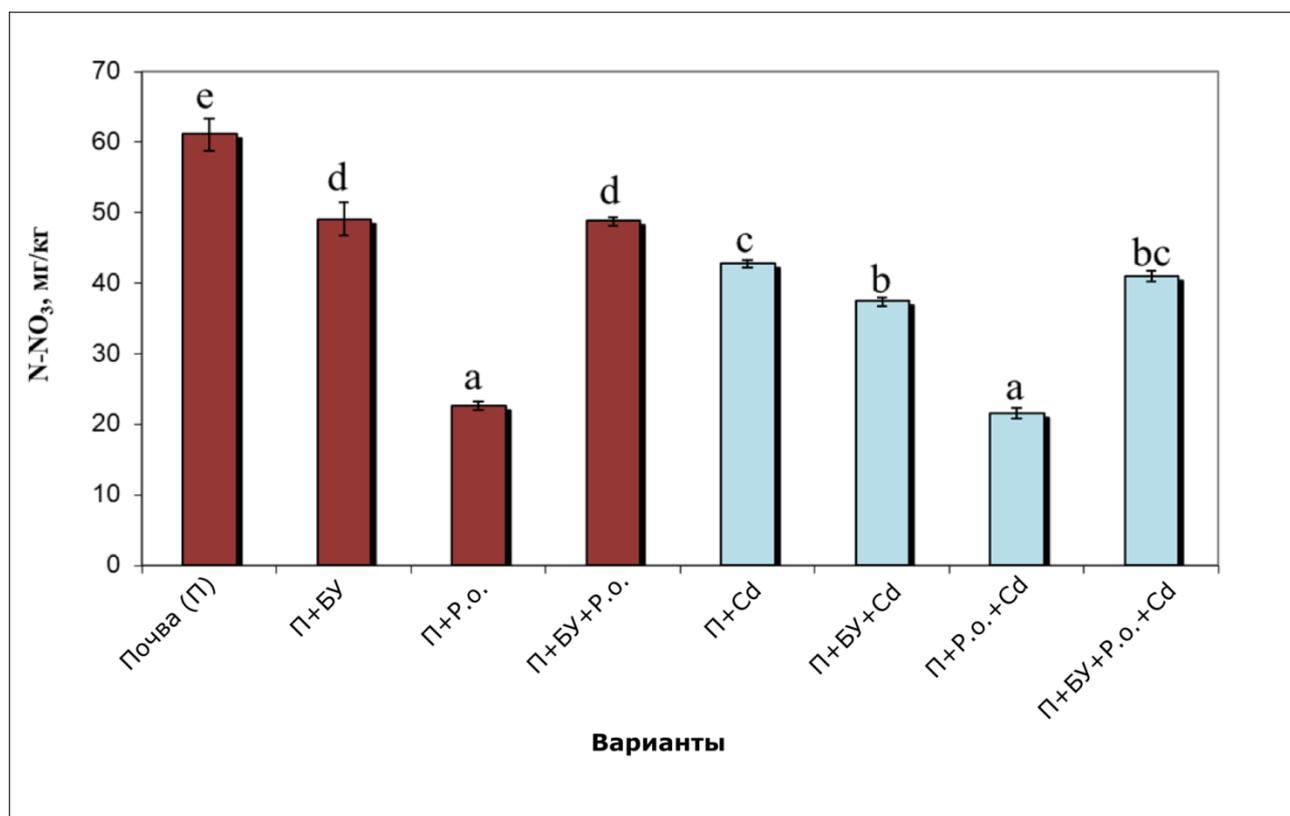


Рисунок 2. Влияние биоугля и растительных остатков на накопление N-NO₃ в почве, загрязненной кадмием, через 3 недели после компостирования, мг/кг

По фону кадмия нитрата накопилось значительно меньше, чем без кадмия. Применение биоугля снижало накопление нитрата в почве, как по фону кадмия, так и без фона. Накопление нитрата в почве было наименьшим при внесении растительных остатков, как без кадмия, так и по фону кадмия, причем в одинаковых количествах, что можно объяснить иммобилизацией нитрата микробной биомассой.

Таким образом, биоуголь снижал накопление нитрата в почве, а растительные остатки не изменяли накопление нитрата при действии кадмия, чем нивелировали токсичное действие кадмия.

Был рассчитан % ингибирования кадмием накопления N-NO₃ в почве при внесении биоугля и растительных остатков (Табл. 6).

Таблица 6. Влияние биоугля и растительных остатков на % ингибирования кадмием накопления N-NO₃ в почве.

Вариант	Без Cd, мг/кг	С Cd, мг/кг	% ингибирования
Почва (П)	61,09 e	42,76 c	30
П + БУ	49,08 d	37,41 b	23
П + Р. о.	22,64 a	21,61 a	4
П + БУ + Р. о.	48,79 d	40,98 bc	16

Наибольшая токсичность кадмия при накоплении нитрата установлена для чистой почвы и составила 30% от содержания нитрата в почве без кадмия. Применение биоугля снизило токсичность на 7%, а применение растительных остатков снизило токсичность в 7 раз. Совместное применение биоугля и растительных остатков снизило токсичное действие кадмия только в 2 раза.

Таким образом, растительные остатки оказали наибольшее влияние на снижение ингибирования кадмием накопления N-NO₃ в почве.

Для того чтобы в полной мере охарактеризовать производство азотного питания в виде нитрата, была определена нитрифицирующая способность почвы по разнице между содержанием нитрата в почве после компостирования и до компостирования (Рис. 3).

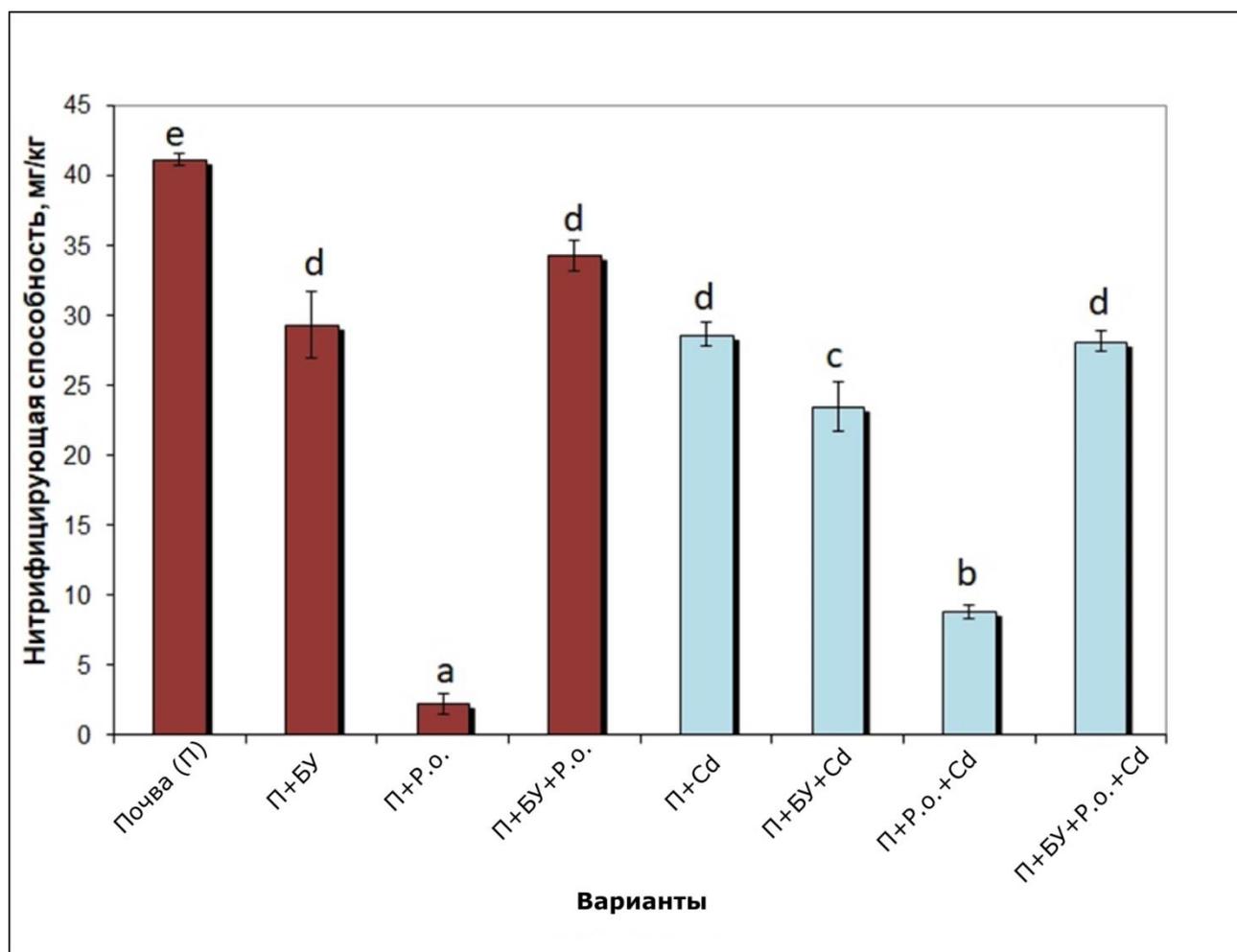


Рисунок 3. Влияние биоугля и растительных остатков на нитрифицирующую способность почвы, загрязненную кадмием, мг/кг

По фону кадмия нитрифицирующая способность почвы была ниже, чем без кадмия. По фону кадмия при добавлении растительных остатков нитрифицирующая способность достоверно выше, чем в аналогичном варианте без кадмия, что объясняется ингибирующим действием кадмия на иммобилизационный процесс, в связи с чем нитраты стали накапливаться в почве. Биоуголь по фону кадмия и без фона кадмия несколько снижал нитрифицирующую способность, и, как итог, не смог снять токсичное действие кадмия на нитрифицирующую способность почвы. Выделяется вариант совместного внесения биоугля и растительных остатков по фону кадмия, поскольку нитрифицирующая способность почвы в этом варианте такая же, как и в варианте без фона кадмия, следовательно, ингибирующее действие кадмия было нивелировано.

Был рассчитан % ингибирования кадмием нитрифицирующей способности почвы при внесении биоугля и растительных остатков (Табл. 7).

Таблица 7. Влияние биоугля и растительных остатков на % ингибирования кадмием нитрифицирующей способности почвы.

Вариант	Без Cd, мг/кг	С Cd, мг/кг	% ингибирования
Почва (П)	41,15 e	28,22 d	31 a
П + БУ	29,31 d	23,27 c	19 a
П + Р. о.	2,24 a	7,64 b	не обнаружен
П + БУ + Р. о.	28,62 d	28,16 d	не обнаружен

Было установлено, что наибольшая токсичность кадмия была обнаружена в почве без применения биопрепаратов, и составила 31%. При внесении биоугля токсичность кадмия снижается практически в 2 раза по сравнению с фоном, а при внесении растительных остатков и совместном внесении биоугля и растительных остатков токсичность кадмия была ликвидирована.

Трехнедельное компостирование растительных остатков в оптимальных гидротермических условиях привело к образованию промежуточных продуктов минерализации: органических и аминокислот, простых белков, углеводов и др., которые образовывали с кадмием органо-минеральные комплексы (хелаты) и уменьшали, таким образом, токсичное действие на почвенную биоту.

Кроме того, растительные остатки – это энергетический и пищевой субстрат для почвенной биоты, в связи с чем резко увеличилась ее биомасса, часть которой могла осмотрочно иммобилизовать кадмий. Эти процессы, под влиянием растительных остатков, привели к нормальному развитию гетеротрофных аммонификаторов и хемолитоавтотрофных нитрификаторов. Поэтому процессы образования аммония и нитрата в присутствии кадмия практически не отличались от процессов в почве без кадмия.

3.2 Влияние биоугля и растительных остатков на длину проростков, биомассу и вынос азота растениями ячменя

Обеспеченность растений азотным питанием коррелирует с длиной проростков ячменя, биомассой растений и устойчивостью растений к кадмию. В прокомпостированные сосуды с внесением биоугля, растительных остатков по фону Cd и без него были посеяны семена ячменя финского сорта Потра 2016 года. Была оценена фитотоксичность кадмия на 7-дневных проростках ячменя, определена биомасса растений фазы "Начало колошения", индекс устойчивости растений к кадмию и вынос азота растениями. Влияние биоугля и

растительных остатков на длину 7-дневных проростков ячменя в почве, загрязненной кадмием представлено на рисунке 4.

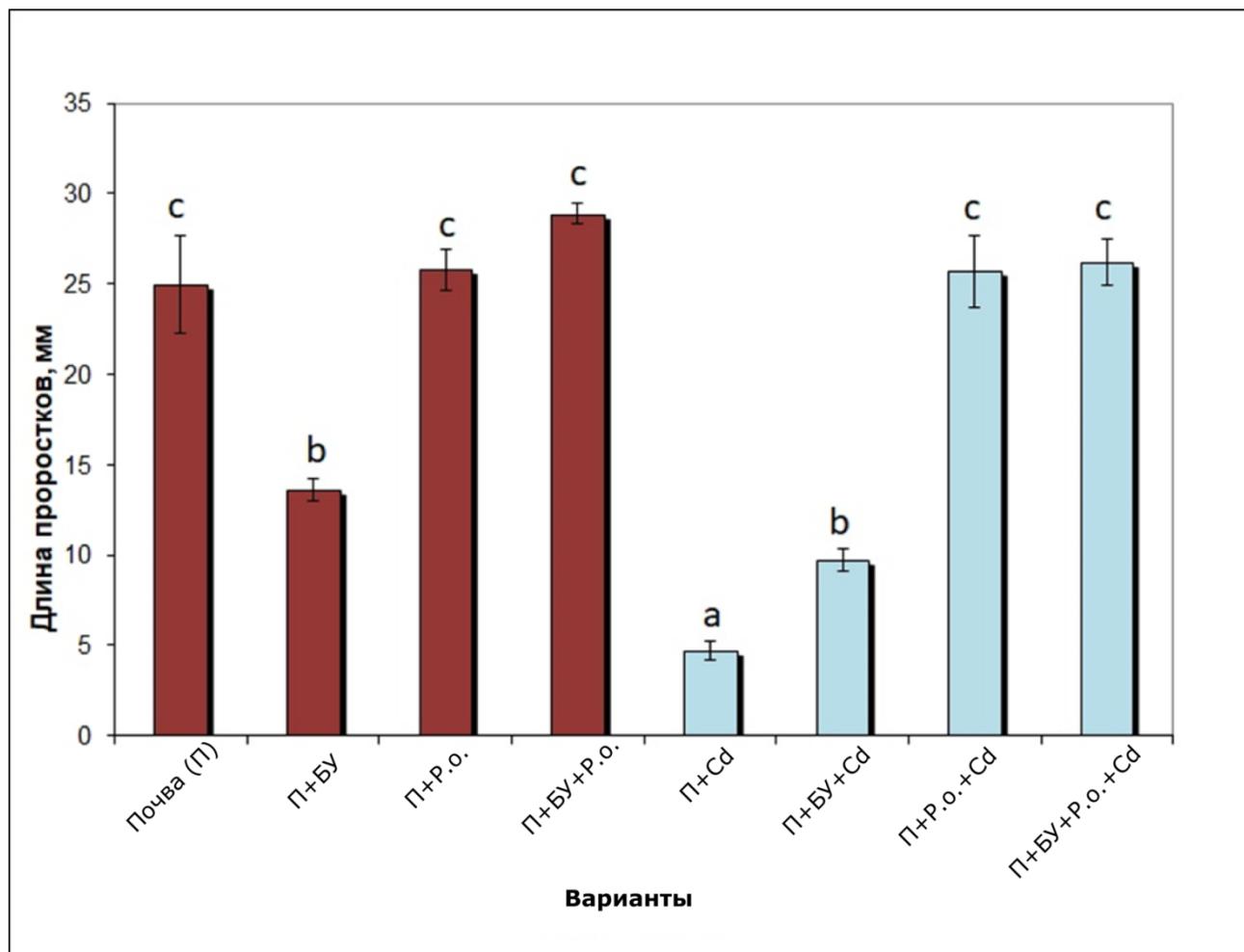


Рисунок 4. Влияние биоугля и растительных остатков на длину 7-дневных проростков ячменя в почве, загрязненной кадмием, мм

По фону кадмия длина проростков имела более низкие значения, чем в вариантах без фона кадмия. Длина проростков в почве по фону кадмия оказалась гораздо меньше, чем во всех остальных вариантах. При добавлении в почву, загрязненную кадмием, биоугля, растительных остатков или при их совместном внесении наблюдалось снижение токсичности кадмия. Длина проростков была практически такая же, как и в аналогичных вариантах без фона кадмия. Самые высокие показатели обнаружены при внесении растительных остатков и растительных остатков с биоуглем совместно. В варианте с биоуглем был достаточно низкий показатель длины проростков, что могло быть связано с проявлением некоторого подавления почвенных микроорганизмов биоуглем.

Таким образом, наиболее активно на снижение токсичности кадмия проявили себя растительные остатки. Влияние биоугля и растительных остатков на сухую биомассу растений ячменя представлено на рисунке 5.

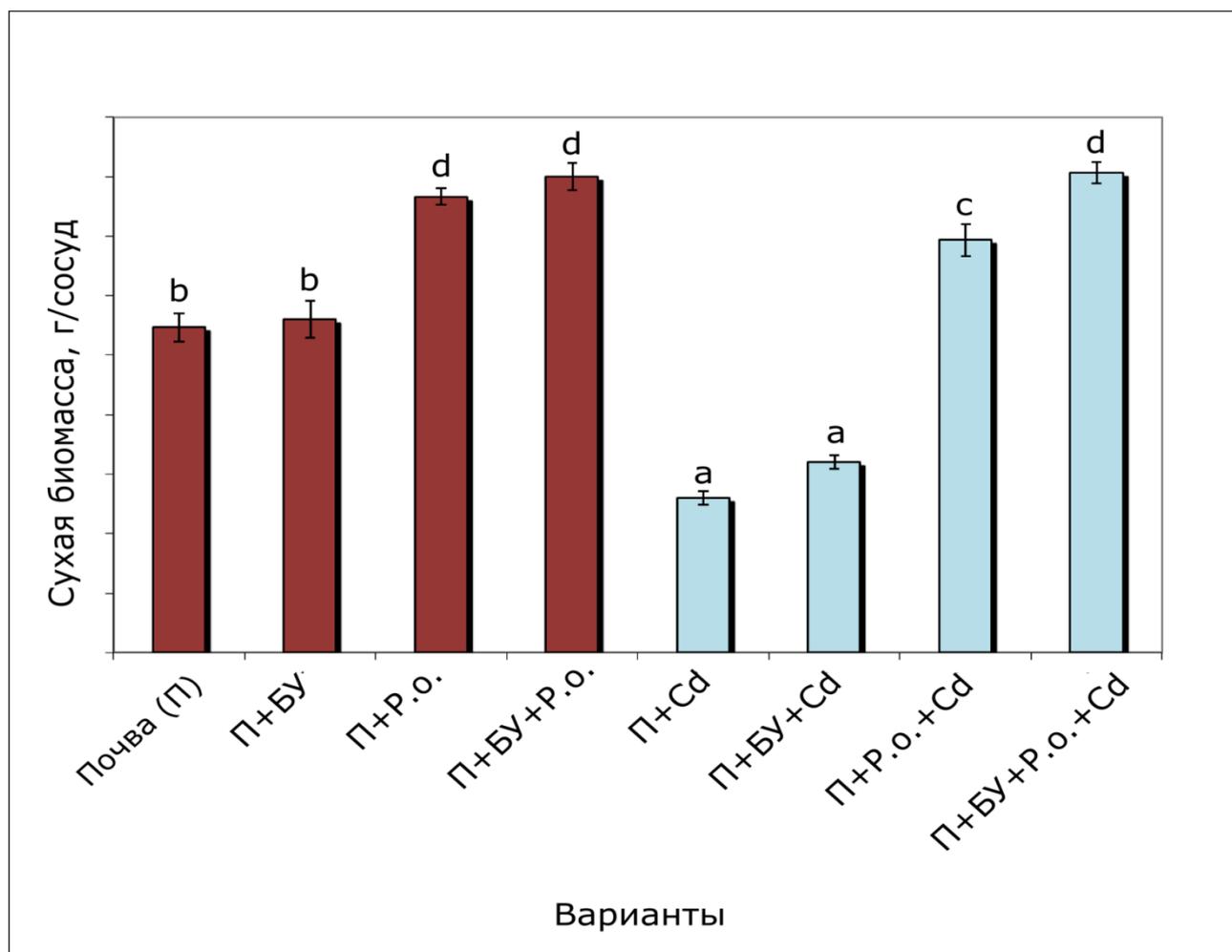


Рисунок 5. Влияние биоугля и растительных остатков на сухую биомассу растений ячменя, г/сосуд

Без фона кадмия растительные остатки увеличили сухую биомассу в 1,5 раза по сравнению с фоном, а биоуголь не оказал влияния на биомассу растений. При внесении кадмия в варианте с биоуглем величина сухой биомассы резко снизилась, в вариантах с растительными остатками снижение биомассы было небольшим, либо вообще не наблюдалось.

Таким образом, биоуголь не снял отрицательное действие кадмия на величину биомассы ячменя. Растительные остатки увеличили биомассу растений до уровня выше, чем в контрольной почве, но не сняли полностью токсичного действия кадмия. Совместное применение биоугля и растительных остатков полностью ликвидировали токсичное действие кадмия на биомассу растений ячменя.

Был рассчитан индекс устойчивости растений к кадмию при внесении биоугля и растительных остатков (Табл. 8).

Таблица 8. Влияние биоугля и растительных остатков на индекс устойчивости растений к кадмию, %

Вариант	Масса растений без Cd, г/сосуд	Масса растений с Cd, г/сосуд	Индекс устойчивости, %
Почва (П)	2,7 b	1,3 a	48
П + БУ	2,8 b	1,6 a	58
П + Р. о.	3,8 d	3,5 c	90
П + БУ + Р. о.	4,0 d	4,0 d	100

Показано, что самая низкая устойчивость обнаружена в чистой почве без добавления биопрепаратов. При добавлении биоугля индекс устойчивости увеличился на 10%. Добавление растительных остатков увеличило индекс устойчивости до 90%, а при совместном внесении биоугля и растительных остатков создавалась 100%-ая устойчивость растений к кадмию. Влияние биоугля и растительных остатков на вынос азота растениями ячменя представлено на рисунке 6.

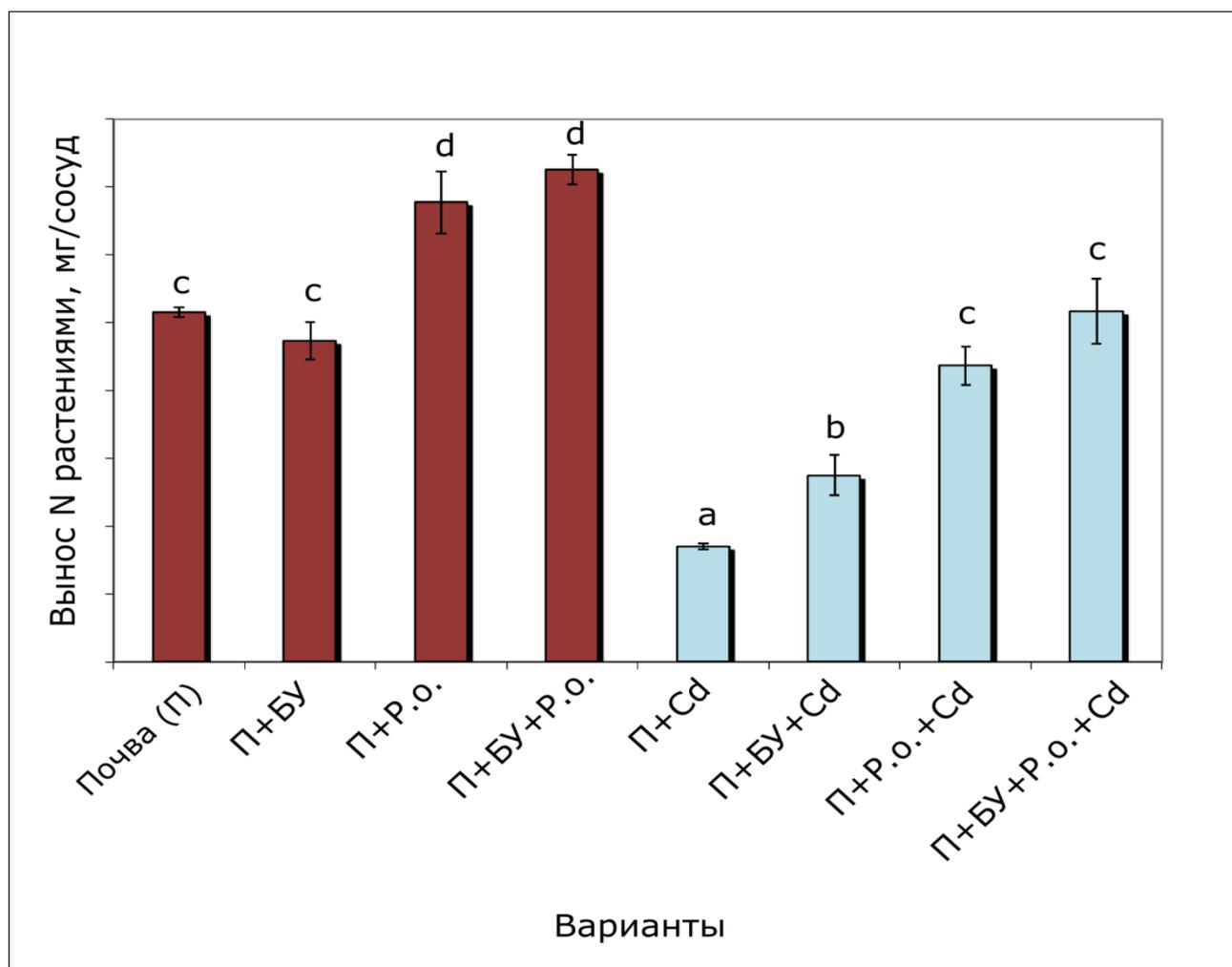


Рисунок 6. Влияние биоугля и растительных остатков на вынос азота растениями ячменя, мг/сосуд.

Усвоение растениями азота по фону кадмия произошло в меньших количествах, чем без фона кадмия. Биоуголь не оказал никакого влияния на усвоение азота растениями без фона кадмия в почве, а по фону кадмия биоуголь достоверно увеличил содержание и вынос азота растениями ячменя, однако не снял токсичное действие полностью.

Растительные остатки и совместное применение растительных остатков с биоуглем увеличили интенсивность усвоения азота растениями до уровня контрольного варианта без фона кадмия, но целиком снять ингибирующее действие кадмия не удалось.

Таким образом, для устранения ингибирующего действия кадмия на длину проростков, биомассу, устойчивость растений к кадмию и усвоение азота растениями ячменя наибольшее значение имеет внесение растительных остатков или растительных остатков с биоуглем совместно.

Были сделаны фотографии, на которых демонстрируется вид растений ячменя в фазе «начало выхода в трубку».



Фотография 1. Общий вид растений ячменя в фазе «начало выхода в трубку» по фону кадмия и без фона кадмия.



Фотография 2. Вид растений ячменя в фазе «начало выхода в трубку» на почве без внесения кадмия и с кадмием.



Фотография 3. Вид растений ячменя в фазе «начало выхода в трубку» при внесении биоугля по фону кадмия и без фона кадмия.



Фотография 4. Вид растений ячменя в фазе «начало выхода в трубку» при внесении растительных остатков по фону кадмия и без фона кадмия.



Фотография 5. Вид растений ячменя в фазе «начало выхода в трубку» при совместном применении биоугля и растительных остатков по фону кадмия и без фона кадмия.

3.3 Влияние биоугля и растительных остатков на концентрацию и вынос кадмия растениями ячменя.

В таблице 9 представлены рассчитанные концентрации и вынос кадмия растениями ячменя при внесении биоугля и растительных остатков.

Таблица 9. Влияние биоугля и растительных остатков на концентрацию и вынос кадмия растениями ячменя.

Вариант	Сухой вес растений, г/сосуд	Концентрация Cd в растениях, мг/г сухой биомассы	Вынос Cd растениями, мг/сосуд
Контроль	2,7 b	0,0000	0,0000
Почва + Cd	1,3 a	0,060 b	0,079 b
Почва + БУ + Cd	1,6 a	0,027 a	0,043 a
Почва + Р.о. + Cd	3,5 c	0,052 b	0,181 d
Почва + БУ + Р.о. + Cd	4,0 d	0,027 a	0,109 c

Концентрация кадмия в растениях ячменя была самой большой и практически одинаковой в вариантах с почвой без применения биопрепаратов и с внесением в почву только растительных остатков, что объясняется увеличением биомассы растений за счет улучшения азотного питания. Наименьшая концентрация кадмия в растениях отмечена в вариантах с биоуглем. Это можно объяснить сорбцией кадмия биоуглем.

Вынос кадмия растениями ячменя установлен наибольший в вариантах с растительными остатками, за счёт наибольшей биомассы в этих вариантах, наименьший – в варианте с биоуглем, за счёт высоких сорбционных свойств биоугля.

Таблица 10 демонстрирует транслокацию кадмия из почвы в растения ячменя при внесении биоугля и растительных остатков.

Таблица 10. Влияние биоугля и растительных остатков на транслокацию кадмия из почвы в растения ячменя, %

Вариант	Содержание Cd в почве, мг/сосуд	Вынос Cd в растения ячменя, мг/сосуд	% поступления Cd в растения из почвы
Почва + Cd	25,0	0,079 b	0,32
Почва + БУ + Cd	25,0	0,043 a	0,17
Почва + Р.о. + Cd	25,0	0,181 d	0,72
Почва + БУ + Р.о. + Cd	25,0	0,109 c	0,44

Наименьший процент поступления кадмия в растения из почвы установлен в варианте с биоуглем, он оказался в 2 раза ниже, чем по фону кадмия. Наибольший процент поступления кадмия в растения из почвы показан в вариантах с растительными остатками, причем в варианте совместного внесения биоугля и растительных остатков наблюдается несколько меньшее поступление кадмия в растения, что может быть связано с частичной сорбцией кадмия биоуглем.

Таким образом, рекомендуется использовать биоуголь с целью снижения поступления кадмия в растения, а растительные остатки, напротив, с целью увеличения выноса кадмия растительной биомассой для улучшения фиторемедиации загрязнённых кадмием почв.

Заключение

В последние годы агроценозы испытывают тяжелейшие нагрузки, связанные с загрязнением почвы тяжелыми металлами. Наиболее токсичным из них является кадмий. В связи с этим, наиболее острым вопросом агроэкологического мониторинга является проблема снижения уровня загрязнения почв кадмием.

К одному из приемов детоксикации можно отнести внесение в почву биологических препаратов. Биопрепараты снижают токсичное действие кадмия, переводя его в сложно-доступные комплексные соединения – лиганды, тем самым блокируя пути проникновения кадмия в корневую систему растений.

Использование таких биопрепаратов как биоуголь, обладающий способностью сорбировать кадмий и растительных бобово-злаковых остатков, при минерализации которых образуется целый ряд промежуточных органических соединений способных хелатировать кадмий, позволило целиком снять токсичное действие высокой дозы кадмия (50 мг/кг) на минерализационные процессы, усвоение азота растениями, формирование их биомассы.

Результаты, полученные в данном эксперименте, позволяют сделать вывод, что наибольший вклад в снижение токсичного действия кадмия, как на процессы минерализации азотсодержащих органических соединений, так и на формирование биомассы растений, вынос азота и поступления кадмия в растения ячменя, вносит совместное применение биоугля и растительных остатков.

Внесение совместно биоугля и растительных остатков оказывает наибольший положительный эффект по сравнению с другими вариантами по ряду причин.

Во-первых, растительные остатки являются основным энергетическим субстратом для почвенных микроорганизмов, за счёт чего при внесении растительных остатков в почву может происходить увеличение микробной биомассы, и, как следствие, увеличение осмотрофного поглощения кадмия микроорганизмами и его вывод из биологического круговорота. Поэтому увеличение численности микроорганизмов обеспечивает более интенсивное осуществление процессов аммонификации и нитрификации, что в свою очередь стимулирует рост биомассы, устойчивость растений к кадмию и усвоение азота растениями. При минерализации растительных остатков образуется целый ряд органических соединений, таких как аминокислоты, простые и сложные сахара, фенолы, органические кислоты, которые способны хелатировать кадмий и тем самым уменьшать его доступность растениям и микропедобионтам.

Во-вторых, биоуголь обладает сильными сорбционными свойствами, что позволяет снижать концентрацию кадмия в растениях и процент поступления кадмия из почвы.

Внесение только растительных остатков (без биоугля) оказывало более высокий эффект на процессы аммонификации и нитрификации по сравнению с биоуглем. Биоуголь содержит некоторое количество веществ, подавляющих жизнедеятельность почвенных микроорганизмов, таких как смолы, альдегиды, кетоны, фурфурол, сложные эфиры. Поэтому действие одного лишь биоугля проявилось только в качестве сорбента, но этого оказалось недостаточно для полной детоксикации загрязненной кадмием почвы. Именно совместное внесение растительных остатков и биоугля способно нивелировать недостаточное влияние каждого компонента на те, или иные процессы и обеспечить наиболее положительный результат на снижение токсичного действия кадмия.

Таким образом, совместное применение биоуголя и растительных остатков обеспечивает самый благоприятный результат – получение наибольшей биомассы растений с наименьшей концентрацией кадмия. Как альтернативный вариант, возможно использование биоуголя с целью снижения поступления кадмия в растения, а растительные остатки – с целью увеличения выноса кадмия растительной биомассой для улучшения фиторемедиации почв, загрязнённых кадмием.

Выводы

Проделанная работа позволяет сделать следующие выводы:

1. Показано, что биоуголь и бобово-злаковые растительные остатки увеличили содержание аммония и нитрата в почве в условиях стресса, вызванного кадмием.
2. По сравнению с биоуглем бобово-злаковые растительные остатки снизили токсичность кадмия в два раза при накоплении аммония в почве, нитрата - в 5 раз.
3. Показано, что биоуголь не повлиял на величину сухой биомассы ячменя как по фону Cd, так и без него. Совместное применение биоугля и растительных остатков ликвидировало отрицательное действие Cd на биомассу растений ячменя.
4. На почве загрязненной кадмием биоуголь достоверно увеличил вынос азота растениями ячменя, а растительные остатки увеличили поступление азота в растения до уровня контрольного варианта без Cd.
5. Биоуголь снизил концентрацию и вынос кадмия растениями ячменя, растительные остатки не изменили концентрацию кадмия, но резко увеличили вынос кадмия за счет увеличения биомассы растений.

Рекомендации

Для получения наибольшей биомассы растений с наименьшей концентрацией кадмия следует применять совместно биоуголь с растительными остатками.

Рекомендуется использовать биоуголь с целью снижения поступления кадмия в растения, а растительные остатки – с целью увеличения выноса кадмия растительной биомассой для улучшения фиторемедиации почв, загрязнённых кадмием.

Публикации по теме ВКР

1. Искандирова Ю. Р. Влияние биоугля и сидерата на трансформацию минеральных форм азота в почве, загрязненной кадмием // *Материалы Международной научной конференции XXII Докучаевские молодежные чтения «Почва как система функциональных связей в природе»*, Под ред. Б.Ф. Апарина. – СПб, 2019, с. 140-141.
2. Искандирова Ю. Р. Влияние биоугля и сидерата на процессы аммонификации и нитрификации в почве, загрязненной кадмием // *Материалы международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Теория и практика современных географических исследований»*, М.: Издательство «Каллиграф», 2019, с. 387-388.
3. Искандирова Ю. Р. Влияние биоугля и растительных остатков на поступление кадмия и азота в растения ячменя // *Материалы Международной научной конференции XXIII Докучаевские молодежные чтения «Почва в условиях глобального изменения климата»*, Под ред. Б.Ф. Апарина, СПб, 2020, с. 104-106.

Приняты к печати:

4. Искандирова Ю. Р. Влияние биоугля и растительных остатков на минерализацию азотсодержащих соединений при избытке кадмия в почве // *Материалы по изучению русских почв: Сб. науч. докл.*, Под ред. Б.Ф. Апарина, СПб.
5. Искандирова Ю. Р. Влияние биоугля и растительных остатков на минерализационные процессы в почве и доступность азота растениям ячменя при избытке кадмия // *Материалы международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, проведенной в рамках XVI Большого географического фестиваля.*

Список использованной литературы:

1. *Банкина Т. А., Петров М. Ю., Петрова Т. М., Банкин М. П.* Хроматография в агроэкологии, СПб.: НИИ Химии СПбГУ, 2002, с. 155-165, с. 305-310, с. 223.
2. *Батова Ю. В., Титов А. Ф., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф.,* Накопление кадмия и его распределение по органам у растений ячменя разного возраста, Труды Карельского научного центра РАН, № 2, 2012, с. 32–37.
3. *Под ред. Бокрис Дж.О.М. и др.,* Химия окружающей среды, М.: Химия, 1982, с. 670.
4. *Виноградов А. П.,* Геохимия редких и рассеянных элементов в почвах, М.: Изд-во АН СССР, 1957, с. 237.
5. *Гаральчук Ж. З.* Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. Физиология и биохимия культурных растений, 1994. Т. 26. № 2. С. 111–112.
6. *Гармаш Н.Ю.* Влияние тяжёлых металлов на содержание элементов питания в пшенице, Химия в сельском хозяйстве, № 3, 1987, с.57.
7. *Голов В. И., Елпатьевский П. В., Аржанова В. С.,* Микроэлементы в СССР, Вып. 28, 1986, с. 69.
8. *Добровольский В. В.,* Некоторые аспекты загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами – Биологическая роль микроэлементов, М., 1983, с. 44-55.
9. *Добровольский Г.В., Гришина Л.А.* Охрана почв, М., 1985. 224 с.
10. *Довбан К. И.,* Зелёное удобрение, М.: Агропромиздат, 1990, с. 3-170.
11. *Елпатьевский П.В., Аржанова В. С.,* Миграция загрязняющих веществ в почвах и сопряженных средах, Л.: Гидрометеоиздат, 1985, с. 89
12. *Ильин В. Б., Степанова М. Д.,* Агрохимия, №5, 1980, с. 114.
13. *Ильин В.Б., Гармаш Г.А.,* Влияние тяжёлых металлов на рост, развитие и урожайность сельскохозяйственных культур, Агрохимия, №6, 1985, с. 90-100.
14. *Ильин В. Б.,* Почвоведение, №9, 1986, с. 90.
15. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.,* Микроэлементы в почвах и растениях, М.: Мир, 1989, с. 437.

16. *Калпутонова Е. В.*, Трансформация соединений цинка, свинца и кадмия в почвах: Автореф. Дис. ... канд. биолог. наук, М. Почвенный институт им. В. В. Докучаева, 1983, с. 18.
17. *Косицин А.В., Алексеева-Попова Н.В.* Действие тяжелых металлов на растения и механизмы металлоустойчивости, Растения в экстремальных условиях минерального питания, Л.: Наука, 1986, с. 5 - 22.
18. *Крейер К. Г., Банкина Т. А., Орлова Н. Е., Юрьева Г. М.*, Практикум по агрохимическому анализу почв, СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2005, с. 53.
19. *Покровская С.Ф.* Загрязнение почв тяжёлыми металлами и их влияние на сельскохозяйственное производство, М.:ВАСХНИЛ, 1986, с. 51.
20. *Покровская С.Ф., Касатиков В. А.*, Использование осадка городских сточных вод в сельском хозяйстве, М.: ВНИИ информ. и техн.—эконом. Исследований агропромышленного комплекса, 1987, с. 59.
21. *Первунина Р. И.*, Миграция загрязняющих веществ и сопредельных средах, Л.: Гидрометеиздат, 1985, с. 97.
22. *Петрухин В.А., Юшкин Е.И., Андрианова Е.И. и др.*, Мониторинг фоновое загрязнение природных сред, Л.: Гидрометеиздат, выпуск 3, 1986, с. 3.
23. *Руэце К., Кыстя С.*, Борьба с загрязнением почвы, М.: Агропромиздат, 1986, с. 221.
24. *Соколов О.А., Семенов В.М.*, Теория и практика рационального применения азотных удобрений, Москва ВО "Наука" 1992, с. 207.
25. *Туев Н. А.*, Отчёт «Разработка микробиологических способов рекультивации почв Ленинградской области, загрязненных тяжёлыми металлами, с целью возврата их в сельскохозяйственное пользование и получения экологически чистой растениеводческой продукции», Департамент экологии и природопользования, Правительство Ленинградской области, 1999, с. 44.
26. *Черных М.А., Ладонин В.Ф.*, Нормирование загрязнения почв тяжелыми металлами, Агрохимия, №6, 1995, с.71-79.
27. *Antal Jr, M.J. and Grönli, M.*, The art, science, and technology of charcoal production, Industrial and Engineering Chemistry Research, No 42(8), 2003, p. 1619-1640.

28. *Baldock, J. A., Smernik, R. J., 2002. Chemical composition and bioavailability of thermally altered Pinus resinosa (red pine) wood. Organic Geochemistry 33: 1093-1109.*
29. *Bandara, T., Franks, A., Xu, J., Bolan, N., Wang, H., Tang, C., Chemical and biological immobilization mechanisms of potentially toxic elements in biochar amended soils, Crit. Rev. Environ. Sci. Technol, 2020, e 1642832 <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1642832>.*
30. *Barcelo J., Porshenriender Ch., Cabot C. Z., Pflanzenernahr, Und Boden, B. 148, H. 3, 1985, s. 278.*
31. *Bernard, A., Cadmium & its adverse effects on human health. Indian J. Med. Res. 128 (4), 2008, p. 557.*
32. *Bohacz, J., Microbial strategies and biochemical activity during lignocellulosic waste composting in relation to the occurring biothermal phases, J. Environ. Manage., No 206, 2018, p. 1052–1062.*
33. *Bogess, S.F., Willavize, S., Koeppe, D.E., Differential response of soybean cultivars to soil cadmium, Agron. J., No70, 1978, p. 756–760.*
34. *Boulter, J.I., Trevors, J.T., Boland, G.J., Microbial studies of compost: bacterial identification, and their potential for turfgrass pathogen suppression, World J. Microbiol. Biotechnol., No 18, 2002, p. 661–671.*
35. *Bourke, J., Manley-Harris, M., Fushimi, C., Dowaki, K., Nunoura, T., Antal, M. J. Jr., Do all carbonised charcoals have the same structure? A model of the chemical structure of carbonized charcoal, Industrial and Engineering Chemistry Research, No 46, 2007, p. 5954-5967.*
36. *Bujtas U., Cseh E., The influence of heavy metals on the plants growth and development, Plant and soil, Vol. 63, № 1, 1981, p. 97.*
37. *Buyer, J.S., Teasdale, J.R., Roberts, D.P., Zasada, I.A., Maul, J.E., Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping system, Soil Biol. Biochem., No 42, 2010, p. 831–841.*
38. *Chan, K.Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A. and Joseph, S., 2007. Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. Australian Journal of Soil Research 45(8): 629-634.*

39. *Chan, K. Y., Xu, Z., Biochar: Nutrient Properties and Their Enhancement. In: Biochar for Environmental Management: Science and Technology (Eds. Lehmann, J. & Joseph, S.), Earthscan, 2009.*
40. *Chen, Q., Lu, X., Guo, X., Pan, Y., Yu, B., Tang, Z., & Guo, Q., Differential responses to Cd stress induced by exogenous application of Cu, Zn or Ca in the medicinal plant Catharanthus roseus. Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 157, 2018, p. 266–275.*
41. *Chen, H., Yang, X., Wang, H., Sarkar, B., Shaheen, S. M., Gielen, G., Bolan, N., Guo, J., Che, L., Sun, H., Rinklebe, J. Animal carcass- and wood-derived biochars improved nutrient bioavailability, enzyme activity, and plant growth in metal-phthalic acid ester co-contaminated soils: A trial for reclamation and improvement of degraded soils, Journal of Environmental Management, No 261, 2020, e 110246. doi:10.1016/j.jenvman.2020.110246*
42. *Christensen T. M., Water, Air, Soil pollution, V. 26 №3, 1985, p. 255.*
43. *Clemens S., Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants, Biochimie, Vol. 88, 2006, p. 1707–1719.*
44. *Cuypers, A., Plusquin, M., Remans, T., Jozefczak, M., Keunen, E., Gielen, H., Opdenakker, K., Nair, A.R., Munters, E., Artois, T.J., Cadmium stress: an oxidative challenge, BioMetals Vol. 23, 2010, p. 927–940.*
45. *De Bertoldi, M., Vallini, G., Pera, A., The biology of composting: a review, Waste Manage. Res., No 1, 1983, p. 157–176.*
46. *Demirbas, A., Effects of temperature and particle size on bio-char yield from pyrolysis of agricultural residues, Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, No 72(2), 2004, p. 243-248.*
47. *Downie, A., Crosky, A., Munroe, P., 2009. Physical properties of biochar. In: Biochar for Environmental Management: Science and Technology (Eds. Lehmann, J. & Joseph, S.), Earthscan.*
48. *Elmer WH, Pignatello JJ , Effect of biochar amendments on mycorrhizal associations and Fusarium crown and root rot of asparagus in replant soils, Plant Disease, No 95, 2011, p. 960–966.*
49. *Fei Chen, Jing Dong, Fang Wang, Feibo Wu , Guoping Zhang, Guoming Li, Zhefeng Chen, Jingxing Chen, Kang Wei, Identification of barley genotypes with low grain Cd accumulation and its interaction with four microelements, Chemosphere, No 67, 2007, p. 2082–2088.*

50. *Fennici Ann. Bot.*, Nuorteva rekka, V. 23. №4, 1986, p. 333.
51. *Gallego, S.M., Pena, L.B., Barcia, R.A., Azpilicueta, C.E., Iannone, M.F., Rosales, E.P., Zawoznik, M.S., Groppa, M.D., Benavides, M.P.*, Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environ. Exp. Bot.* 83, 2012, p. 33–46.
52. *Glaser, B., Lehmann, J., Zech, W.*, Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal: a review, *Biology and Fertility of Soils*, No 35, 2002, p. 219-230.
53. *Gołębiewski, M., Deja-Sikora, E., Cichosz, M., Tretyn, A., Wróbel, B.*, 16S rDNA pyrosequencing analysis of bacterial community in heavy metals polluted soils, *Microb. Ecol.*, No 67, 2014, p. 635–647.
54. *Graber E.R., Harel Y.M., Kolton M., Cytryn E., Silber A., David D.R., Tsechansky L., Borenshtein M., Elad Y.*, Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media, *Plant and Soil*, No 337, 2010, p. 481–496.
55. *Griffiths, B.S., Philippot, L.*, Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community, *FEMS Microbiol. Rev.*, No 37, 2013, p. 112–129.
56. *Gul, S., Whalen, J.K., Thomas, B.W., Sachdeva, V., Deng, H.*, Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions[J], *Agric. Ecosyst. Environ.*, No 206, 2015, p. 46–59.
57. *Hall J. L., Williams L. E.*, Transition metal transporters in plants, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 54, N 393, 2003, p. 2601–2613.
58. *He, D., Cui, J., Gao, M., Wang, W., Zhou, J., Yang, J., Wang, J., Li, Y., Jiang, C., Peng, Y.*, Effects of soil amendments applied on cadmium availability, soil enzyme activity, and plant uptake in contaminated purple soil. *Sci. Total Environ*, No 654, 2019, p. 1364–1371.
59. *Hinesly, T.D., Alexander, D.E., Redborg, K.E., Ziegler, E.L.*, Differential accumulations of cadmium and zinc by corn hybrids grown on soil amended with sewage sludge, *Agron. J.*, No 74, 1982, p. 469–474.
60. *Howmand M. F, et. al.*, Plant uptake of airborn cadmium *Environment pollution*, V. 30, 1983, p. 27-28.
61. *Huang, Y., Hu, Y., Liu, Y.*, Heavy metal accumulation in iron plaque and growth of rice plants upon exposure to single and combined contamination by copper, cadmium and lead. *Acta Ecol. Sin.* 29 (6), 2009, p. 320–326.

62. *Hu, L., Zhang, C., Zeng, G., Chen, G., Wan, J., Guo, Z., Wu, H., Yu, Z., Zhou, Y.,* Metal-based quantum dots: synthesis, surface modification, transport and fate in aquatic environments and toxicity to microorganisms. *Rsc Adv.* Vol. 6, 2016, 78595–78610.
63. *Hu, L., Wan, J., Zeng, G., Chen, A., Chen, G., Huang, Z., He, K.,* Comprehensive evaluation of the cytotoxicity of CdSe/ZnS quantum dots in *Phanerochaete chrysosporium* by cellular uptake and oxidative stress. *Environ. Sci.* Vol. 4, 2017, p. 10.
64. *Hu, X.F., Jiang, Y., Shu, Y., Hu, X., Liu, L., Luo, F.,* Effects of mining wastewater discharges on heavy metal pollution and soil enzyme activity of the paddy fields, *J. Geochem. Explor.* No147, 2014, p. 139–150.
65. *Ishii, T., Kadoya, K.,* Effects of charcoal as a soil conditioner on citrus growth and vesicular–arbuscular mycorrhizal development, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, No 63, 1994, p. 529-535 c.
66. *Jiayi Tang, Jiachao Zhang, Liheng Ren, Yaoyu Zhou, Jun Gao, Lin Luo, Yuan Yang, Qinghui Peng, Hongli Huang, Anwei Chen,* Diagnosis of soil contamination using microbiological indices: A review on heavy metal pollution, *Journal of Environmental Management*, No 242, 2019, p. 121-130.
67. *John, M.K.,* Cadmium uptake by eight food crops as influenced by various soil levels of cadmium, *Environ. Pollut.* No 4, 1973, p. 7–15.
68. *Khan, S., Hesham, A.B., Qiao, M., Rehman, S., He, J.Z.,* Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, No 17, 2010, p. 288–296.
69. *Kolodynska, D., Wnętrzak, R., Leahy, J. J., Hayes, M. H. B., Kwapiński, W., & Hubicki, Z.,* Kinetic and adsorptive characterization of biochar in metal ions removal, *Chemical Engineering Journal*, No 197, 2012, p. 295-305.
70. *Krämer U., Talke I. N., Hanikene M.,* Transition metal transport, *FEBS Letters*, Vol. 581, 2007, p. 2263– 2272.
71. *Kuboi T., Noguchi A., Yazari J. et. al.* Concentration of heavy metals in plants, *Plant and soil*, Vol. 92, № 3, 1986, p. 405.
72. *Lebrun, J.D., Trinsoutrot-Gattin, I., Vincelas-Akpa, M., Bailleul, C., Brault, A., Mougin, C., Laval, K.,* Assessing impacts of copper on soil enzyme activities in regard to their natural

- spatiotemporal variation under long-term different land uses, *Soil Biol. Biochem.*, No 49, 2012, p. 150–156.
73. *Lehmann, J., da Silva Jr., J. P., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., and Glaser, B.*, Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol in the Central Amazon basin: Fertiliser, manure and charcoal amendments, *Plant and Soil*, No 249, 2003, p. 343-357.
 74. *Li, X., Meng, D., Li, J., Yin, H., Liu, H., Liu, X., Yan, M.*, Response of soil microbial communities and microbial interactions to long-term heavy metal contamination, *Environ. Pollut.*, No 231, 2017, p. 908–917.
 75. *Liu, L., Deng, G., & Shi, X.*, Adsorption characteristics and mechanism of p-nitrophenol by pine sawdust biochar samples produced at different pyrolysis temperatures, *Scientific Reports*, No 10(1), 2020, doi:10.1038/s41598-020-62059-y.
 76. *Liu, Y.Z., Zong, T., Crowley, D., Li, L.Q., Liu, D., Zheng, J.W., Yu, X.Y., Pan, G.X., Hussain, Q., Zhang, X.H., Zheng, J.F.*, Decline in topsoil microbial quotient, fungal abundance and c utilization efficiency of rice paddies under heavy metal pollution across south China, *PLoS One*, No 7 (6), 2012, e38858.
 77. López-González, J.A., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., Jurado, M.M., Moreno, J., 2015. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting: studies upon its structure, functionality and biodiversity. *Bioresour. Technol.* 175, 406–416.
 78. *Masood, A., Iqbal, N., Khan, N.A.*, Role of ethylene in alleviation of cadmium-induced photosynthetic capacity inhibition by sulphur in mustard. *Plant Cell Environ*, Vol. 35, 2012, p. 524–533.
 79. *Mc Fee*, Effect of atmospheric pollutants on soil – Polluted rain – Ed. By Toribara T. – Y. Plenum Press, New York – London, 1980, p. 239-299.
 80. *Mwamba, T.M., Ali, S., Ali, B., Lwalaba, J.L., Liu, H., Farooq, M.A., Shou, J., Zhou, W.*, Interactive effects of cadmium and copper on metal accumulation, oxidative stress, and mineral composition in *Brassica napus*. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* Vol. 13, 2016, p. 2163–2174.
 81. *Olivek D. P., the late K. G. Tiller, M. K. Conyers, W. J. Slattery, A. M. Alston, and R. H. Merry*, Effectiveness of liming to minimise uptake of cadmium by wheat and barley grain grown in the field, *Aust. J. Agric. Res.*, No 47, 1996, p. 1181

82. *Onwosi, C.O., Igbokwe, V.C., Odimba, J.N., Eke, I.E., Nwankwoala, M.O., Iroh, I.N., Ezeogu, L.I.*, Composting technology in waste stabilization: on the methods, challenges and future prospects, *J. Environ. Manage.*, No 190, 2017, p. 140–157.
83. *Pane, C., Spaccini, R., Piccolo, A., Celano, G., & Zaccardelli, M.*, Disease suppressiveness of agricultural greenwaste composts as related to chemical and bio-based properties shaped by different on-farm composting methods, *Biological Control*, 2019, e 104026. doi:10.1016/j.biocontrol.2019.104026
84. *Park, J.H., Choppala, G. K., Bolan, N. S., Chung, J. W., & Chuasavathi, T.*, Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals. *Plant and Soil*, No 348(1-2), 2011, p. 439-451.
85. *Penrose D.M., Moffatt B.A. et. al.*, The effect of ACC deaminase-containing on roots of canola seedlings, Glick Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (AAC) to assess the effects, *Microbiology*, Vol. 47, 2001, p. 77-80.
86. *Poucke R. Van, E. Meers & F. M. G. Tack*, Leaching behavior of Cd, Zn and nutrients (K, P, S) from a contaminated soil as affected by amendment with biochar, *Chemosphere*, 2019, 125561.
87. *Puga, A.P., Abreu, C. A., Melo, L. C. A., & Beesley, L.*, Biochar application to a contaminated soil reduces the availability and plant uptake of zinc, lead and cadmium, *Journal of Environmental Management*, No 159, 2015, p. 86-93.
88. *Rubina Khanam, Anjani Kumar, A.K. Nayak, Md. Shahid, Rahul Tripathi, S. Vijayakumar, Debarati Bhaduri, Upendra Kumar, Sangita Mohanty, P. Panneerselvam, Dibyendu Chatterjee, B.S. Satapathy, H. Pathak*, Metal(loid)s (As, Hg, Se, Pb and Cd) in paddy soil: Bioavailability and potential risk to human health, *Science of the Total Environment*, Vol.699, 2020, p. 11.
89. *Shang, G.F., et al.*, Effectiveness and mechanisms of hydrogen sulfide adsorption by camphor-derived biochar, *Journal of the Air & Waste Management Association*, No 62(8), 2012, p. 873-879.
90. *Sheik, C.S., Mitchell, T.W., Rizvi, F.Z., Rehman, Y., Faisal, M., Hasnain, S., McInerney, M.T., Krumholz, L.R.* Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure, *PLoS One*, No 7, 2012, e40059.

91. *Staiger K., Machelett B., Cirun M.* Acad. Landwirtschaft – swissenschaften PPR, No 28, 1986, p. 69.
92. *Stavi, I., Bel, G., Zaady, E.*, Soil functions and ecosystem services in conventional, conservation, and integrated agricultural systems, A review. *Agron. Sustain. Dev.*, No 36, 2016, p. 32.
93. *Steve P., McCraft, J. Roger Sanders, Trevor M. Adams,* J. Sci. Food Agric, V. 36 № 7, 1985, p. 532.
94. *Thomas, G.M., Harrison, H.C.*, Genetic line effects on parameters influencing cadmium concentration in lettuce, *J. Plant Nutr*, No 14, 1991, p.953–962.
95. *Ventorino, V., Parillo, R., Testa, A., Viscardi, S., Espresso, F., Pepe, O.*, 2016. Chestnut green waste composting for sustainable forest management: microbiota dynamics and impact on plant disease control. *J. Environ. Manage.* 166, 168–177.
96. *Vetter H., Kowalewski H.*, Wie hoch ist die Cadmium belastung von Boden und Pflansen?, *DLG – Mitteiluhgen*, Bd 99, № 11/12, 1984, s. 720-721.
97. *Warnock, D.D., Lehmann, J., Kuyper, T.W. and Rillig, M.C.*, Mycorrhizal responses to biochar in soil - Concepts and mechanisms. *Plant and Soil* 300(1-2), 2007, p. 9-20.
98. *Wijaya, M., Wiharto, M., & Danial, M.*, Using pine and cocoa waste with pyrolysis technology by liquid smoke, charcoal and bio char, *Journal of Physics: Conference Series*, No1321, 2019, e 022031. doi:10.1088/1742-6596/1321/2/022031
99. *Wu, H., Qin, X., Wu, H., Li, F., Wu, J., Zheng, L., Wang, J., Chen, J., Zhao, Y., Lin, S., Lin, W.*, Biochar mediates microbial communities and their metabolic characteristics under continuous monoculture, *Chemosphere*, No 246, 2020, e 125835. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.125835
100. *Yu, H., Xiang, Y., Zou, D.*, The effect of *Eulaliopsis binata* on the physi-chemical properties, microbial biomass, and enzymatic activities in Cd-Pb polluted soil, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, No 23, 2016, p. 19212–19218.
101. *Zackrisson O, Nilsson M-C, Wardle DA*, Key ecological function of charcoal from wildfire in the boreal forest, *Oikos*, 1996, p. 10–19.

102. *Zhu, N., Yan, T., Qiao, J., & Cao, H.*, Adsorption of arsenic, phosphorus and chromium by bismuth impregnated biochar: Adsorption mechanism and depleted adsorbent utilization, *Chemosphere*, No 164, 2016, p. 32-40.