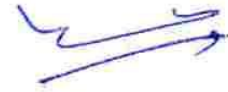


На правах рукописи



**АЛЬ-ХАРБАВИИ
ВААД ЭМАДУЛДИИН КАСИД**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ДЛЯ
УДАЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ СТОЧНЫХ ВОД
ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ**

03.02.08 – экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Владимир – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор, Заслуженный деятель науки Республики Мордовия
Лукаткин Александр Степанович

Официальные оппоненты: **Воронина Людмила Петровна**
доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», ведущий научный сотрудник кафедры агрохимии и биохимии растений

Казнина Наталья Мстиславовна
доктор биологических наук, Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ведущий научный сотрудник лаборатории экологической физиологии растений.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Защита состоится «_____» _____ 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.025.07 при ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» по адресу: 600000, г. Владимир, ул. Горького, д. 87, ВлГУ, корп.1, ауд.335.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ВлГУ и на сайте <http://diss.vlsu.ru>.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, можно присылать по адресу: 600000, г. Владимир, ул. Горького, д. 87, ВлГУ, кафедра биологии и экологии.

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Кулагина Екатерина Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Ионы тяжелых металлов (ТМ) в повышенных концентрациях оказывают токсическое действие на растения (DalCorso et al., 2008; Казнина и др., 2008; Титов и др., 2011; Dixit et al., 2015; Jayanthi et al., 2016). В последние десятилетия наблюдается возрастающее загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами, в том числе на землях сельскохозяйственного назначения (Лебедев и др., 2015). Это приводит к усилению поглощения ТМ культурными растениями, нарушениям физиологических процессов, ухудшению качества продукции (Серегин, Кожевникова, 2006; Башмаков, Лукаткин, 2009; Казнина, Титов, 2013; Титов и др., 2014; Шумакова, 2016; Jayanthi et al., 2017).

В последнее время интенсивно изучается способность различных видов растений к сверхаккумуляции ТМ и возможности их применения для очистки загрязненных вод и почв (Прасад, 2003; Meharg, 2005; Emenike et al., 2012; Fauziah et al., 2013; 2017). Предпринимаются попытки создания устойчивых к избытку ТМ растений с использованием биотехнологических подходов, включая клонирование и селекцию металлоустойчивых генотипов, а также генную инженерию (Chaney et al., 1997; Karenlampi et al., 2000; Kumar, 2014; Akcil et al., 2015; Bouhajja et al., 2016). При этом очистка почв посредством растений экономичнее и наносит меньший ущерб окружающей среде по сравнению с существующими химическими и физическими методами мелиорации (Прасад, 2003; Hashisho, El-Fadel, 2016; Lohri et al., 2017).

Возрастающее поступление сточных вод (СВ) в природные водоемы приобретает характер глобальной экологической угрозы. Стоки предприятий содержат различные токсиканты, среди которых особую опасность представляют ТМ (Пааль, 1994; Алексеев, 2004; Пестриков и др., 2006; Будыкина, 2012). Очистка СВ предприятий от тяжелых металлов является актуальной исследовательской задачей, имеющей как теоретическое, так и прикладное значение.

Цель работы: изучение возможности использовать травянистые растения средней полосы Российской Федерации для фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами сточных вод.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1) определить концентрационные зависимости аккумуляции ТМ (Cu, Ni, Zn, Pb) в органах травянистых растений (*Amaranthus retroflexus* L., *Chenopodium album* L., *Medicago sativa* L., *Arctium tomentosum* L., *Taraxacum officinale* Wigg.) из растворов, содержащих одиночные соли ТМ или их смесь;

2) изучить физиологические и биохимические изменения, происходящие в клетках растений при действии различных концентраций тяжелых металлов, и оценить их применимость в качестве индексов повреждения;

3) в условиях модельного опыта показать возможность использования изученных растений в целях фиторемедиации;

4) изучить фиторемедиационную способность растений при удалении загрязняющих веществ (ТМ) из сточных вод промышленных предприятий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Травянистые виды естественной флоры могут аккумулировать большие количества тяжелых металлов в различных своих частях, что позволяет оценить их

как эффективные фитоэкстракты и фитостабилизаторы отдельных ТМ.

2. Оценка изменений физиологических и биохимических показателей в молодых растениях, выращиваемых на различных дозах ТМ, свидетельствует о высокой устойчивости травянистых растений естественной флоры к ТМ.

3. Поглощение и аккумуляция тяжелых металлов отдельными частями травянистых растений как в модельных опытах на растворах отдельных ТМ и их смеси, так и из сточных вод промышленных предприятий позволяет рассматривать эти виды в качестве потенциальных фиторемедиантов.

Научная новизна. Проведен комплексный анализ поглощения, аккумуляции и транслокации ТМ в органах травянистых растений средней полосы России (*Amaranthus retroflexus* L., *Chenopodium album* L., *Medicago sativa* L., *Arctium tomentosum* L., *Taraxacum officinale* Wigg.). Показано, что при действии ТМ в клетках возникает слабо выраженный окислительный стресс, характеризующийся усилением генерации активных форм кислорода (АФК) и интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также изменением антиоксидантной активности. Доказано, что растения амаранта запрокинутого, мари белой, люцерны посевной, лопуха паутинистого и одуванчика лекарственного способны аккумулировать значительные количества ТМ как в подземных, так и в надземных органах. Дана характеристика исследованных видов как фитоэкстрактов или фитостабилизаторов, а также оценка данных растений как аккумуляторов или исключителей ТМ.

Научно-практическая значимость работы. Показана возможность использования травянистых растений средней полосы Российской Федерации в качестве фиторемедиантов на почвах и сточных водах, которые загрязнены ТМ. Полученные результаты могут быть использованы при разработке технологий фиторемедиации почв и сточных вод предприятий, загрязненных ТМ; при оценке устойчивости растений к ксенобиотикам (ТМ); в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных занятий по курсам «Экологическая физиология растений», «Физиология растений», «Антропогенное воздействие на биосферу», «Растение и стресс» и др.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены и доложены на научных конференциях: 9 Всероссийской научно-практической конференции «Управление качеством образования, продукции и окружающей среды» (Бийск, 13 ноября – 14 ноября 2015 г.); Всероссийской (с международным участием) научной конференции «Биологические аспекты распространения, адаптации и устойчивости растений» (Саранск, 15–18 мая 2016 г.); XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Экология родного края: проблемы и пути их решения» (Киров, 23–24 апреля 2018 г.); Годичном собрании ОФР и Научной конференции «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды» (Иркутск, 10-15 июля 2018 г.).

Публикации результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работы, из них 1 статья в рецензируемом журнале, который входит в перечень ВАК РФ и 1 статья в журнале из баз Web of Science, Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 143 страницах печатного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Диссертационная работа включает 20 рисунков и 19 таблиц. Список литературы содержит 331 источник, из них 209 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассмотрены физиолого-биохимические основы влияния ионов тяжелых металлов на растения, механизмы адаптации и толерантности к действию тяжелых металлов. Обобщены данные о фиторемедиационной способности растений. Проанализированы основные направления очистки сточных вод промышленных предприятий от загрязнения ТМ.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования: амарант запрокинутый (*Amaranthus retroflexus* L.); марь белая (*Chenopodium album* L.); люцерна посевная (*Medicago sativa* L.); лопух паутинистый (*Arctium timentosum* L.); одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg.). Семена растений собирали в конце сентября на территории г. Саранска и хранили 3 месяца в песке при температуре 2–4 °С для прохождения холодной стратификации (Журбицкий, Ильин, 1968).

Постановка эксперимента. Семена проращивали в водной культуре при освещенности около 80 мкМ фотонов/м²с, фотопериоде 14 ч, температуре 21 °С на растворах, содержащих одиночную соль ТМ ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) или смесь эквимольных растворов четырех солей ТМ в концентрациях 1 и 10 мкМ, 0,1 и 1 мМ (тестирующие концентрации подобраны в предварительных экспериментах и охватывают диапазон от дефицитных до сублетальных). Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде. Спустя 7 суток экспозиции (для одуванчика через 14 суток) измеряли длину, сырую и сухую массу корней и побегов молодых растений, содержание ТМ в органах (корень, стебель/гипокотиль, семядоли/ лист), в листьях определяли скорость генерации супероксидного анион-радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$), содержание общих перекисей (ОП), интенсивность ПОЛ, активность каталазы.

Для определения способности изучаемых растений удалять ТМ из промышленно-загрязненных вод были взяты образцы промышленных вод с трех предприятий по производству аккумуляторов в г. Багдад, в лаборатории была проведена фильтрация образцов для избавления от примесей. Семена изучаемых растений выращивали на каждом из образцов воды в течение 14 суток, затем определяли содержание ТМ в органах растений.

Методы исследования. Сырую и сухую массу и содержание воды определяли весовым методом, отдельно для корней и надземной части десяти растений, после высушивания при температуре 95 °С в течение 10–11 ч и досушивания до постоянной массы при температуре 100–105 °С (Большой практикум..., 2015).

Содержание ТМ в органах растений определяли после высушивания до постоянной массы при 100±5 °С, озоления навесок и растворения азотной кислотой. Концентрацию металлов в растворе определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре Shimadzu серии AA–7000 (Япония). Концентрацию элементов пересчитывали в мг/кг сухой массы.

Интенсивность ПОЛ в листьях растений оценивали по накоплению продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) (Лукаткин, Голованова, 1988).

Скорость генерации супероксидного анион-радикала определяли по окислению адреналина в адренохром (Purvis et al., 1995; Лукаткин, 2002a) с использованием коэффициента молярной экстинкции ($\epsilon = 4020 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Содержание общих перекисей анализировали по ферротииоцианатному методу (Лукаткин, 2002a) с расчетом по калибровочной кривой, построенной на основе H_2O_2 .

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли по (Kumar, Knowles, 1993) в

модификации (Лукаткин, 2002b) по снижению концентрации H_2O_2 с использованием коэффициента молярной экстинкции $\varepsilon = 39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Повторности и статистическая обработка результатов. Опыты проводили 3–5 раз, в каждом опыте было от 3 до 20 биологических повторностей. Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методикам (Лакин, 1980) с использованием компьютерных программ Statistica и Microsoft Excell. В таблицах и на графиках представлены средние арифметические из всех опытов с их стандартными ошибками. Сравнение вариантов проводили по t-критерию Стьюдента при 5% уровне значимости, а также по Duncan.

ГЛАВА 3. СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В РАСТЕНИЯХ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА РАСТВОРАХ ТМ

Содержание ТМ во всех органах *Amaranthus retroflexus* L. возросло по мере увеличения концентрации ионов ТМ в среде выращивания (табл. 1). Ионы свинца в

Таблица 1 – Содержание металлов в органах растений амаранта, выращенных на растворах, содержащих ионы ТМ (раздельно или в смеси), мг/кг сухой массы

Концентрация ионов ТМ	Орган	Pb	Ni	Cu	Zn
0 (контроль)	лист	36,4 ± 20,9	5,1 ± 0,6	0,9 ± 0,6	76,0 ± 21,0
	стебель	40,2 ± 22,2	4,1 ± 1,6	2,8 ± 0,3	25,4 ± 7,9
	корень	51,9 ± 24,4	4,5 ± 2,0	4,9 ± 1,2	37,0 ± 12,0
Один ТМ					
1 мкМ	лист	41,4 ± 21,4	5,2 ± 0,6	20,5 ± 1,5	126,5 ± 6,5
	стебель	63,9 ± 16,9	10,4 ± 1,4	14,4 ± 2,4	47,5 ± 2,5
	корень	56,4 ± 18,4	5,8 ± 0,3	30,0 ± 5,0	50,9 ± 4,2
10 мкМ	лист	178,7 ± 11,7	9,3 ± 0,8	23,5 ± 1,5	144,9 ± 5,2
	стебель	159,2 ± 7,2	18,0 ± 2,0	37,0 ± 6,0	72,4 ± 7,7
	корень	155,0 ± 20,0	25,9 ± 4,1	42,4 ± 8,9	70,0 ± 7,0
100 мкМ	лист	387,4 ± 14,4	120,7 ± 19,4	49,2 ± 3,9	211,9 ± 11,9
	стебель	286,5 ± 9,5	161,4 ± 8,7	57,2 ± 7,1	158,4 ± 11,7
	корень	705,0 ± 42,0	226,5 ± 23,5	50,0 ± 6,3	175,9 ± 14,2
1 мМ	лист	1055,5 ± 160,5	1070,3 ± 76,4	511,5 ± 27,5	1132,8 ± 87,8
	стебель	1411,5 ± 435,5	994,5 ± 92,5	340,2 ± 27,2	1440,3 ± 106,1
	корень	2011,7 ± 361,7	1096 ± 232,0	569,0 ± 28,0	1946,2 ± 96,2
Смесь ТМ					
1 мкМ	лист	12,8 ± 2,7	8,8 ± 1,2	12,0 ± 2,0	73,5 ± 6,5
	стебель	26,4 ± 3,6	7,3 ± 1,5	16,5 ± 3,5	63,5 ± 6,5
	корень	15,2 ± 2,9	19,5 ± 3,5	17,8 ± 1,8	48,2 ± 6,9
10 мкМ	лист	297,0 ± 3,0	14,0 ± 1,0	21,9 ± 0,2	96,7 ± 3,4
	стебель	166,7 ± 23,3	23,9 ± 6,1	20,5 ± 4,5	73,4 ± 6,7
	корень	125,7 ± 5,7	24,5 ± 10,5	21,5 ± 0,5	51,0 ± 6,0
100 мкМ	лист	681,4 ± 31,4	33,2 ± 6,9	24,4 ± 0,7	224,7 ± 7,3
	стебель	169,9 ± 9,8	50,4 ± 12,7	34,5 ± 3,5	76,9 ± 6,2
	корень	193,5 ± 6,5	59,4 ± 10,7	39,8 ± 3,3	78,0 ± 7,0
1 мМ	лист	994,7 ± 7,4	288,2 ± 18,2	221,0 ± 25,0	421,9 ± 40,9
	стебель	476,2 ± 26,9	337,0 ± 47,0	126,5 ± 14,5	360,7 ± 34,7
	корень	705,5 ± 4,5	399,2 ± 63,2	162,1 ± 17,6	393,5 ± 20,5

большей степени накапливались в корне, тогда как ионы цинка – в стебле. Интенсивность накопления ионов никеля и меди снижалась от корней к листьям. При выращивании растений амаранта на растворах, содержащих смесь ТМ, ионы ТМ аккумулировались менее интенсивно, чем в варианте с одной солью ТМ, за исключением низких концентраций Ni^{2+} .

При экспозиции *Chenopodium album* L. на моноэлементных растворах ТМ (табл. 2) наиболее интенсивное накопление Pb^{2+} отмечено в листьях (за исключением концентрации 1 мМ). Ионы меди и никеля максимально накапливались в листьях мари. Содержание цинка возрастало от листа к корню на фоне субоптимальной концентрации, но на фоне сублетальных концентраций – от корня к листу. При выращивании мари на растворах, содержащих смесь ТМ, при низкой дозе ТМ аккумулировались преимущественно в листьях, тогда как при высокой дозе нет единой тенденции для исследуемых металлов (Cu^{2+} – в листьях, Zn^{2+} – в корнях).

Таблица 2 – Содержание ТМ в органах растений мари белой, выращенных на растворах, содержащих ионы ТМ (раздельно или в смеси), мг/кг сухой массы

Концентрация ионов ТМ	Орган	Pb	Ni	Cu	Zn
0 (контроль)	Листья	7,9 ± 2,4	3,2 ± 1,2	1,0 ± 0,5	61,3 ± 11,3
	Стебель	26,7 ± 4,2	5,7 ± 0,7	8,5 ± 3,5	39,6 ± 9,6
	Корни	19,4 ± 5,9	8,5 ± 1	8,9 ± 2,9	34,0 ± 9,0
Один ТМ					
1 мкМ	Листья	22,5 ± 2,5	7,8 ± 1,3	16,0 ± 4,0	96,9 ± 3,2
	Стебель	26,5 ± 2,5	5,1 ± 1,1	18,4 ± 6,7	45,7 ± 4,4
	Корни	14,4 ± 2,4	8,3 ± 0,8	16,9 ± 5,1	35,3 ± 4,8
10 мкМ	Листья	109,2 ± 9,2	11,6 ± 1	24,9 ± 5,1	131,2 ± 8,9
	Стебель	83,5 ± 6,5	14,7 ± 0,4	20,0 ± 7,0	60,0 ± 10,0
	Корни	80,9 ± 5,9	26,5 ± 3,5	25,4 ± 5,6	57,0 ± 6,0
100 мкМ	Листья	113,4 ± 1,7	28,4 ± 1,7	28,2 ± 4,9	174,4 ± 5,7
	Стебель	148,2 ± 3,2	59,5 ± 7,5	27,0 ± 4,0	132,0 ± 5,0
	Корни	254,5 ± 5,5	96,7 ± 5,7	57,9 ± 2,2	140,9 ± 4,8
1 мМ	Листья	535,7 ± 31,7	883,7 ± 11,7	208,4 ± 12,4	1393,3 ± 71,4
	Стебель	1443,7 ± 180,7	601,2 ± 17,2	376,7 ± 13,7	1240,3 ± 56,4
	Корни	2861,2 ± 38,8	976,7 ± 61,7	416,2 ± 34,2	2124,7 ± 14,7
Смесь ТМ					
1 мкМ	Листья	48,7 ± 18,7	12,9 ± 0,9	16,2 ± 1,2	105,0 ± 25,0
	Стебель	46,2 ± 11,2	7,1 ± 0,1	15,4 ± 1,6	50,2 ± 11,9
	Корни	38,5 ± 18,5	13,5 ± 0,5	16,4 ± 1,6	43,7 ± 1,4
10 мкМ	Листья	135,7 ± 6,7	13,0 ± 1,0	18,0 ± 4,0	132,5 ± 1,5
	Стебель	218,0 ± 113	19,2 ± 1,2	15,7 ± 0,7	59,9 ± 10,2
	Корни	177,2 ± 82,2	21,5 ± 6,5	19,0 ± 4,0	60,4 ± 11,7
100 мкМ	Листья	110,7 ± 25,4	29,0 ± 3,0	21,0 ± 4,0	167,2 ± 14,9
	Стебель	170,4 ± 10,4	84,7 ± 18,7	21,5 ± 4,5	123,3 ± 27,8
	Корни	221,2 ± 56,9	98,5 ± 21,5	44,0 ± 16,0	130,2 ± 36,9
1 мМ	Листья	460,7 ± 59,4	623,2 ± 39,5	173,0 ± 67,0	885,9 ± 59,5
	Стебель	1164,5 ± 51,8	655,5 ± 74,5	303,5 ± 46,5	910,5 ± 35,5
	Корни	1888 ± 109,3	829,2 ± 135,9	488,7 ± 28,8	1432,8 ± 71,9

Определение содержания ТМ в растениях *Medicago sativa* L. показало их возрастание в осевых органах люцерны с увеличением концентрации ТМ в среде выращивания (табл. 3). В отличие от растений амаранта, где были выявлены индивидуальные особенности накопления для различных ТМ, в растениях люцерны максимальное накопление всех ТМ отмечено в стеблях, затем в листьях, и минимальное – в корнях. Содержание цинка в органах люцерны было минимальным, а ионов меди – максимальным.

Таблица 3 – Содержание ТМ в органах растений люцерны посевной, выращенных на растворах, содержащих ионы ТМ (раздельно или в смеси), мг/кг сухой массы

Концентрация ТМ	Орган	Pb	Ni	Cu	Zn
0 (контроль)	Листья	4,8 ± 2	6,9 ± 2	2,8 ± 2,5	60,4 ± 36,9
	Стебель	15,2 ± 10,6	8,4 ± 2,7	3,3 ± 2,9	62,6 ± 32,6
	Корни	152,6 ± 46,4	8,7 ± 4	2,1 ± 1,7	50,5 ± 15,0
Один ТМ					
1 мкМ	Листья	22,2 ± 12,9	10,2 ± 2,2	290,5 ± 2,5	129,7 ± 9,7
	Стебель	23,4 ± 3,9	11,9 ± 1,9	207,1 ± 24,9	82,2 ± 5,6
	Корни	51,3 ± 23,8	13,0 ± 1,0	255,4 ± 20,3	96,5 ± 9,5
10 мкМ	Листья	45,2 ± 4,5	18,4 ± 1,7	297,0 ± 5,0	288,9 ± 27,9
	Стебель	335,3 ± 25,0	36,5 ± 6,5	273,5 ± 16,5	85,0 ± 6,0
	Корни	354,2 ± 58,9	97,4 ± 6,4	493,9 ± 71,9	283,2 ± 68,2
100 мкМ	Листья	301,2 ± 68,9	115,7 ± 14	307,0 ± 2,0	351,1 ± 21,0
	Стебель	822,5 ± 112,5	112,7 ± 7,4	283,7 ± 13,7	442,2 ± 41,2
	Корни	606,2 ± 63,9	201,5 ± 16,5	600,4 ± 25,4	356,0 ± 78,0
1 мМ	Листья	310,4 ± 49,9	246,3 ± 52,4	597,0 ± 6,0	519,7 ± 64,7
	Стебель	1064,5 ± 115,5	522,7 ± 59,7	439,2 ± 59,2	474,7 ± 34,7
	Корни	1483,6 ± 133,1	690,4 ± 72,3	594,3 ± 73,7	904,4 ± 165,4
Смесь ТМ					
1 мкМ	Листья	14,0 ± 1,5	13,8 ± 1,3	10,7 ± 0,2	95,1 ± 6,2
	Стебель	40,4 ± 3,4	16,0 ± 2,0	23,6 ± 3,1	227,2 ± 15,2
	Корни	49,1 ± 6,9	12,5 ± 0,3	6,6 ± 1,1	52,6 ± 8,1
10 мкМ	Листья	55,8 ± 4,8	15,0 ± 0,5	12,4 ± 1,4	167,7 ± 21,0
	Стебель	121,1 ± 12,6	23,7 ± 3,7	25,9 ± 3,8	247,2 ± 18,2
	Корни	79,2 ± 14,9	14,5 ± 0,5	12,2 ± 1,2	118,5 ± 18,3
100 мкМ	Листья	234,5 ± 4,5	21,3 ± 3,3	16,3 ± 1,3	238,7 ± 8,3
	Стебель	257,7 ± 12,7	113,4 ± 14,6	300,7 ± 62,7	334,2 ± 43,2
	Корни	255,2 ± 24,9	80 ± 13,3	23,9 ± 1,9	168,9 ± 6,8
1 мМ	Листья	248,3 ± 4,3	293,5 ± 20,5	240,6 ± 15,6	372,0 ± 15,0
	Стебель	382,9 ± 43,8	891,9 ± 76,9	686,7 ± 76,6	881,4 ± 81,4
	Корни	635,4 ± 125,4	573,4 ± 40,4	380,9 ± 62,4	821,0 ± 71,0

Присутствие ионов ТМ в среде выращивания индуцировало увеличение концентрации исследуемых металлов в органах растений *Arctium tomentosum* L. (табл. 4). Более высокие дозы ТМ результировали в более высоком содержании металлов в органах лопуха. При экспозиции растений лопуха на растворе, содержащем какой-

либо один исследуемый металл, не выявлено определенной тенденции по накоплению металла по органам. В варианте с выращиванием на смеси ТМ медь накапливалась максимально в стебле (на фоне всех концентраций); цинк накапливался по осевым органам следующим образом: корень – стебель – лист, а на фоне 1 мМ ионов ТМ наблюдалась противоположная тенденция: лист – стебель – корень.

Таблица 4 – Содержание ТМ в органах растений лопуха паутинистого, выращенных на растворах, содержащих ионы ТМ (раздельно или в смеси), мг/кг сухой массы

Концентрация ТМ	Орган	Pb	Ni	Cu	Zn
0 (контроль)	Листья	7,1 ± 0,9	3,9 ± 0,4	2,2 ± 0,8	5,9 ± 0,5
	Стебель	5,3 ± 0,6	5,8 ± 0,7	2 ± 0,3	6,9 ± 0,2
	Корни	6,7 ± 0,8	10,1 ± 1,0	4,2 ± 0,7	7,4 ± 0,4
один ТМ					
1 мкМ	Листья	5,1 ± 0,5	4,8 ± 0,7	14,3 ± 0,8	84,7 ± 5,2
	Стебель	2,9 ± 0,3	15,3 ± 1,4	29,3 ± 1,1	154,0 ± 14,1
	Корни	22 ± 1,3	19,9 ± 2,0	56,7 ± 2,3	118,7 ± 4,8
10 мкМ	Листья	21 ± 1,0	6,1 ± 0,9	23,3 ± 1,8	86,0 ± 6,7
	Стебель	32,7 ± 2,3	27 ± 1,3	38,3 ± 2,2	392,7 ± 16,4
	Корни	23,7 ± 1,5	86,7 ± 9,7	63,7 ± 4,1	130,0 ± 5,2
100 мкМ	Листья	24 ± 0,9	21,3 ± 1,6	35,0 ± 3,6	245,3 ± 10,3
	Стебель	45 ± 3,2	97,3 ± 7,4	63,0 ± 4,1	944,2 ± 21,7
	Корни	121,3 ± 5,1	230,7 ± 14,2	142,7 ± 9,1	1686,7 ± 33,4
1 мМ	Листья	147 ± 4,8	23,7 ± 2,1	237,3 ± 12,5	271,7 ± 13,8
	Стебель	542,7 ± 20,1	147,7 ± 11,3	189,3 ± 6,3	654,3 ± 25,1
	Корни	1576,7 ± 61,3	240,7 ± 10,6	735 ± 15,9	2836,7 ± 64,3
смесь ТМ					
1 мкМ	Листья	4,8 ± 0,2	5,4 ± 0,8	13,0 ± 1,3	74,0 ± 3,6
	Стебель	29,3 ± 1,1	8,4 ± 0,6	16,0 ± 0,9	64,7 ± 5,8
	Корни	20,3 ± 3,1	10,0 ± 0,4	21,0 ± 2,3	55,3 ± 4,6
10 мкМ	Листья	68 ± 4,5	5,6 ± 0,3	15,7 ± 1,5	79,7 ± 7,1
	Стебель	27,3 ± 1,5	8,7 ± 0,7	19,0 ± 2,5	83,7 ± 4,3
	Корни	67,3 ± 3,6	11,0 ± 0,3	21,7 ± 1,6	61,0 ± 4,8
100 мкМ	Листья	104,3 ± 7,4	5,8 ± 0,6	20,0 ± 0,9	92,0 ± 4,7
	Стебель	145,3 ± 8,2	10,0 ± 0,9	31,7 ± 3,1	102,7 ± 10,8
	Корни	234,3 ± 10,1	15,3 ± 1,1	24,0 ± 1,6	67,0 ± 8,1
1 мМ	Листья	700,7 ± 22,5	19,3 ± 1,6	16,0 ± 0,8	118,0 ± 7,4
	Стебель	2076,7 ± 54,8	115,3 ± 21,3	31,0 ± 2,5	288,3 ± 15,4
	Корни	2980 ± 58,4	100,3 ± 16,4	64,0 ± 5,1	359,7 ± 16,7

Содержание ТМ в органах *Taraxacum officinale* Wigg. многократно превышало контроль во всех вариантах эксперимента, с увеличением концентрации металлов в среде возрастало их содержание и в растениях (табл. 5). Ионы Ni²⁺ и Cu²⁺ в наибольшей степени накапливались в стеблях, за исключением варианта 1 мМ смеси

ТМ, где содержание увеличивалось от листа к корню. При выращивании растений одуванчика на растворе, содержащем субоптимальные концентрации Zn^{2+} , содержание цинка увеличивалось от корня к листу; при выращивании на смеси ТМ максимальное содержание цинка отмечено в стеблях, а на фоне 1 мМ ионов ТМ – в листьях.

Таблица 5 – Содержание ТМ в органах растений одуванчика лекарственного, выращенных на растворах, содержащих ионы ТМ (раздельно или в смеси), мг/кг сухой массы

Концентрация ТМ	Орган	Pb	Ni	Cu	Zn
0 (контроль)	Листья	1,7 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,3 ± 0,2
	Стебель	0,4 ± 0	0,3 ± 0,2	1 ± 0,2	0,3 ± 0,1
	Корни	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,3	1,1 ± 0,4	0,3 ± 0,1
Один ТМ					
1 мкМ	Листья	16,4 ± 5,3	11,4 ± 1,4	16,5 ± 1,5	58,7 ± 1,4
	Стебель	2,5 ± 2,5	24,4 ± 1,4	37,9 ± 2,9	56,0 ± 9,0
	Корни	3,5 ± 3,5	30,2 ± 1,2	15,2 ± 1,2	52,4 ± 2,7
10 мкМ	Листья	14,4 ± 4,7	17,0 ± 1,0	18,5 ± 1,5	80,4 ± 2,7
	Стебель	57,2 ± 7,2	35,4 ± 0,6	34,5 ± 2,5	64,7 ± 12,4
	Корни	4,5 ± 0,5	36,0 ± 2,0	16,7 ± 1,4	59,0 ± 3,0
100 мкМ	Листья	33,4 ± 1,7	109,0 ± 9,0	22,5 ± 0,5	114,9 ± 7,2
	Стебель	116,9 ± 6,9	150,2 ± 15,2	38,2 ± 1,9	142,5 ± 3,5
	Корни	250,2 ± 10,2	178,7 ± 17,7	19,0 ± 1,0	146,2 ± 6,8
1 мМ	Листья	74,9 ± 4,9	612,0 ± 12,0	220,2 ± 20,2	1054,8 ± 64,9
	Стебель	519,9 ± 19,9	593,5 ± 13,5	323,9 ± 6,2	1044,3 ± 66,4
	Корни	619,2 ± 39,2	567,0 ± 23,0	160,4 ± 5,7	1459 ± 159,0
Смесь ТМ					
1 мкМ	Листья	17,0 ± 2,0	4,7 ± 2,3	9,0 ± 2,0	37,0 ± 4,0
	Стебель	21,0 ± 4,0	8,7 ± 1,4	9,5 ± 1,5	51,2 ± 17,9
	Корни	37,7 ± 4,4	7,4 ± 1,7	11,0 ± 1,0	17,9 ± 1,8
10 мкМ	Листья	38,4 ± 5,6	37,9 ± 10,9	18,5 ± 11,5	79,7 ± 4,7
	Стебель	107,9 ± 11,9	83,5 ± 13,5	42,7 ± 15,7	106,2 ± 11,1
	Корни	145,7 ± 4,3	83,5 ± 26,5	42,0 ± 2,5	69,9 ± 31,9
100 мкМ	Листья	161,2 ± 8,8	49,9 ± 2,9	18,0 ± 1,7	79,0 ± 11,0
	Стебель	263,7 ± 25,7	92,2 ± 7,9	32,0 ± 1,8	102,5 ± 22,5
	Корни	214,9 ± 19,9	81,2 ± 3,9	18,5 ± 4,5	63,2 ± 14,9
1 мМ	Листья	206,7 ± 3,3	176,9 ± 16,9	96,7 ± 4,7	297,7 ± 7,7
	Стебель	147,9 ± 34,2	94,2 ± 15,8	44,5 ± 9,5	187,2 ± 82,9
	Корни	124,4 ± 4,7	90,2 ± 35,9	43,2 ± 5,9	86,0 ± 26,0

Проанализировав полученные результаты по содержанию ТМ в органах исследуемых растений, можно сделать заключение, что поглощение ТМ растениями возрастало с повышением дозы ТМ в среде, причем как в вариантах с одним ТМ в среде, так и в смеси ТМ. Выявлены особенности аккумуляции ТМ в органах разных видов растений. При выращивании растений амаранта запрокинутого, мари белой и

лопуха паутинистого на растворах, содержащих как одну соль ТМ, так и смесь ТМ, содержание металлов в надземной части ниже, чем в корнях. Способность корней задерживать ТМ снижает их транспорт в надземные органы растений (Wagner, 1993; Grant et al., 1997). Однако при экспозиции люцерны посевной и одуванчика лекарственного на смеси ТМ содержание металлов было больше в стеблях и листьях. Это свидетельствует о том, что защитные механизмы и барьеры, функционирующие на уровне клеток и тканей корня, не в состоянии полностью предотвратить попадание тяжелых металлов в побеги растений. С другой стороны, выявленные особенности аккумуляции ТМ в органах травянистых растений могут быть использованы при фиторемедиации загрязненных ТМ почв и вод.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ТМ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ

Рост – интегральный показатель состояния растения, который показывает нарушения физиологических процессов на уровне целого организма. Токсическое действие тяжелых металлов как широко распространенных токсикантов часто оценивают по ингибированию роста (Willkins, 1978; Wong, Bradshaw, 1982; Breckle et al., 1991; Иванов и др., 2003; Серегин, Иванов, 2001; Серегин, Кожевникова, 2006; 2008; Башмаков, Лукаткин, 2009). Визуализация влияния ТМ на рост молодых растений показала (рис. 1), что с увеличением дозы ТМ в среде уменьшались размеры осевых органов.



Рисунок 1 – Габитус травянистых растений, выращенных на растворах, содержащих ионы ТМ (А – *Amrantsus retroflexus*, В – *Arctium tomentosum*, С – *Medicago sativa*, D – *Taraxacum officinale*, Е – *Chenopodium album*). Цифрами под растениям указаны концентрации: 1 – 0 (вода), 2 – 1 мкМ, 3 – 10 мкМ, 4 – 0,1 мМ, 5 – 1 мМ.

Все ионы ТМ ингибировали ростовые процессы (определенные как по длине осевых органов – корней и надземной части, так и по сырой и сухой массе) исследуемых растений, но в разной степени. Так, ионы Zn^{2+} в наименьшей степени действовали на рост органов всех исследуемых растений; ионы Cu^{2+} оказали наиболее токсичное действие на рост корня лопуха и побегов амаранта; ионы Pb^{2+} максимально подавляли рост корней одуванчика и амаранта и побегов мари; ионы Ni^{2+} максимально ингибировали рост осевых органов люцерны, а также корней мари. Особенности токсического действия ТМ на рост (зависящие от физико-химических свойствами их ионов и особенностей передвижения и распределения) определяются их влиянием на деление и растяжение клеток, уменьшением размера меристемы и числа клеток в меристеме, нарушением метаболизма, и т.п. (Иванов и др., 2003; Серегин и др., 2003; 2011; Серегин, Кожевникова, 2006; 2008; 2009; Мейчик и др., 2011; Серегин и др., 2011; Ismail et al., 2013; Ochonogor, Atagana, 2014; Su, 2014).

Биомасса является важным показателем, который характеризует рост растения и его частей. При выращивании в водной культуре с добавлением ионов ТМ биомасса растений варьировала. Наиболее токсичными для исследуемых растений оказались ионы Ni^{2+} : в большинстве вариантов отмечено снижение массы корня относительно контроля. Побеги исследуемых растений были более устойчивы к действию никеля. Для других ТМ выявлены разнонаправленные изменения биомассы осевых органов.

Содержание воды в побегах растений при действии ионов ТМ было ниже водного контроля почти во всех вариантах эксперимента (в корнях оставалось на уровне контроля); сходные эффекты ТМ на содержание воды отмечались и на других видах растений (Barcelo, Poschenrider, 1990; Wozny et al., 1995; Vassilev et al., 1997).

Таким образом, все ионы ТМ оказывали токсичное действие на рост изученных растений. Количественной мерой устойчивости растений к действию металлов может служить индекс толерантности (ИТ) Уилкинса. Растения лопуха были устойчивы (ИТ > 100 %) к действию 1 мкМ меди, цинка и свинца, а также к 10 мкМ меди. Растения лопуха также были устойчивы к влиянию субоптимальной (1 мкМ) концентрации ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} . Растения одуванчика наиболее устойчивы к действию ионов Zn^{2+} (ИТ > 100 % на фоне 1 мкМ – 0,1 мМ), а также к действию 1 мкМ ионов Ni^{2+} и Pb^{2+} . Все ионы ТМ в концентрациях 0,1 и 1 мМ оказывали токсичное действия на растения, о котором можно судить по ИТ < 100 %.

ТМ способны индуцировать окислительный стресс, проявляющийся усилением генерации АФК. Все ионы ТМ индуцировали повышенное образование супероксида в листьях изученных растений, но с разной интенсивностью (рис. 2, А). Так, в растениях амаранта, лопуха и мари максимальную скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ вызывали ионы Pb^{2+} , в растениях люцерны – Cu^{2+} , в растениях одуванчика – Ni^{2+} . Повышенная генерация АФК приводит к усилению образования перекисей и последующего ПОЛ (Лукаткин, 2002; Anjum et al., 2015); продукты ПОЛ могут разрушать клеточные мембраны, и о степени повреждения можно судить по накоплению ТБК-реагирующих продуктов (малонового диальдегида, МДА). Показано, что образование МДА в листьях изученных растений существенно зависело от содержания ТМ в среде выращивания (рис. 2, Б). Максимальную интенсивность ПОЛ в листьях амаранта, люцерны и мари индуцировали ионы Zn^{2+} , в листьях лопуха – ионы Pb^{2+} и в листьях одуванчика – ионы Ni^{2+} . Диспропорциональность по генерации $O_2^{\cdot-}$ и интенсивности ПОЛ, заметная в реакции клеток листьев на ТМ, по-видимому, связана с различиями временных характеристик этих параметров (Gajewska, Sklodowska, 2007; Lehotai et al., 2011).

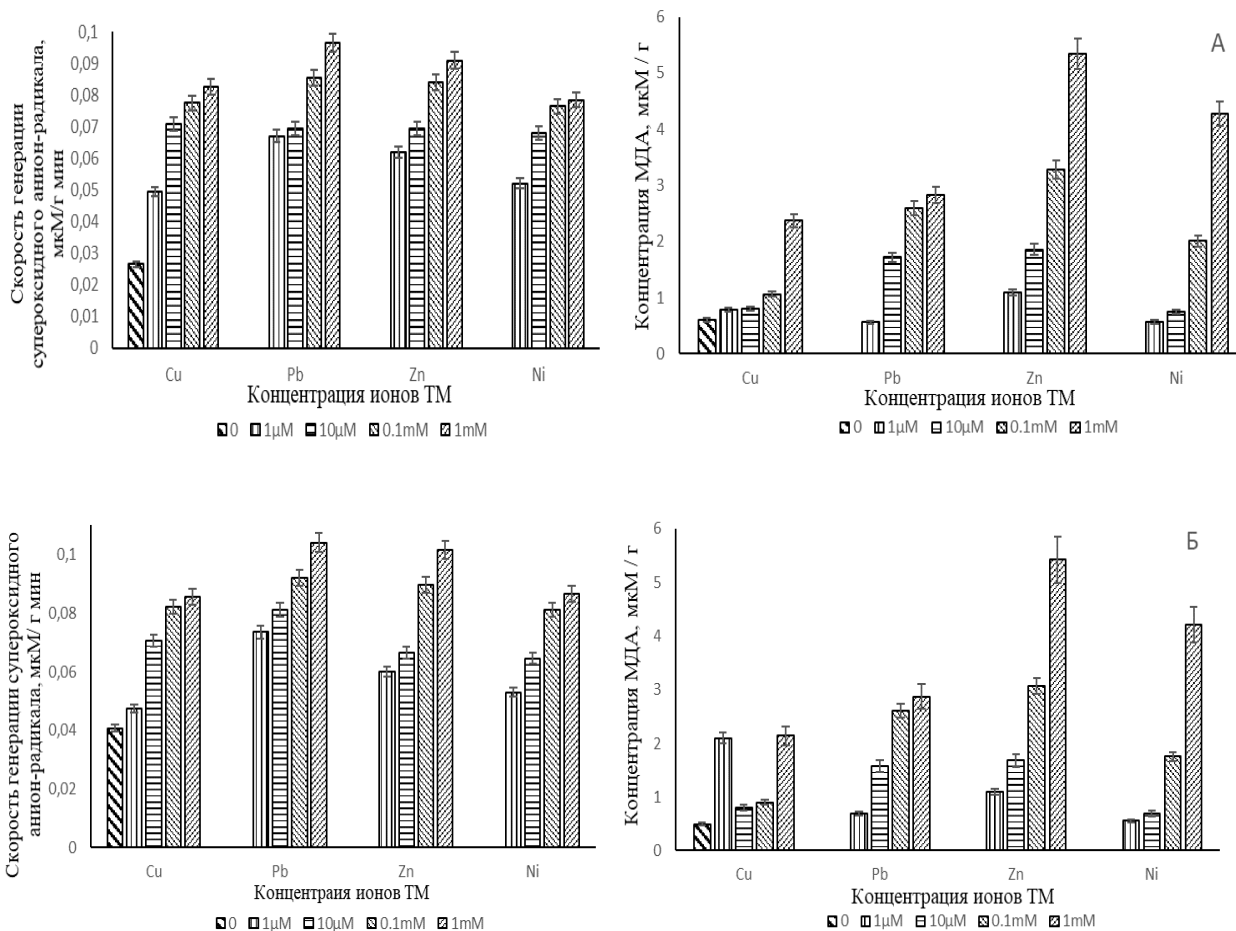


Рисунок 2 – Влияние ТМ на прооксидантные проявления у растений: А – амарант запрокинутый, Б – марь белая.

В результате окислительного стресса, вызванного усилением генерации АФК, возникает множество перекисных соединений (Лукаткин, 2002). Мы исследовали влияние ионов ТМ на содержание общих перекисей в листьях растений (рис. 3). В листьях амаранта ионы ТМ вызвали резкое повышение содержания перекисей (за исключением 1 мкМ ионов Pb^{2+}), максимальное – при концентрации 1 мМ (в 24–44 раза выше контроля). В растениях люцерны не было такого резкого повышения содержания ОП, как в листьях амаранта, но во всех вариантах эксперимента данный показатель был выше контроля. Максимальное содержание ОП индуцировали ионы никеля (в 1,8–9,6 раз выше контроля). В листьях мари ионы Zn^{2+} оказали наименее токсичное действие, индуцируя наименьшее содержание ОП (1,5–5,5 раз к контролю), а ионы Cu^{2+} , наоборот, вызывали максимальные значения данного показателя (2,7 – 9,7). В листьях лопуха содержание перекисей минимально возросло при действии ионов Ni^{2+} (на 36 – 130 % к контролю), а максимально – ионов Zn^{2+} (в 3,5 – 5,2 раз). Самое высокое содержание ОП зафиксировано в листьях одуванчика, максимально (в 26 – 34 раза относительно контроля) при действии 1 мМ ионов ТМ.

Антиоксидантная система растений, противодействующая окислительному стрессу, состоит из низкомолекулярных и ферментативных компонентов. Мы анализировали активность ключевого фермента, участвующего в утилизации H_2O_2 (Лукаткин, 2002б) – каталазы (рис. 4). Активность каталазы в листьях амаранта возросла относительно контроля во всех вариантах, за исключением 1 мкМ Cu^{2+} и

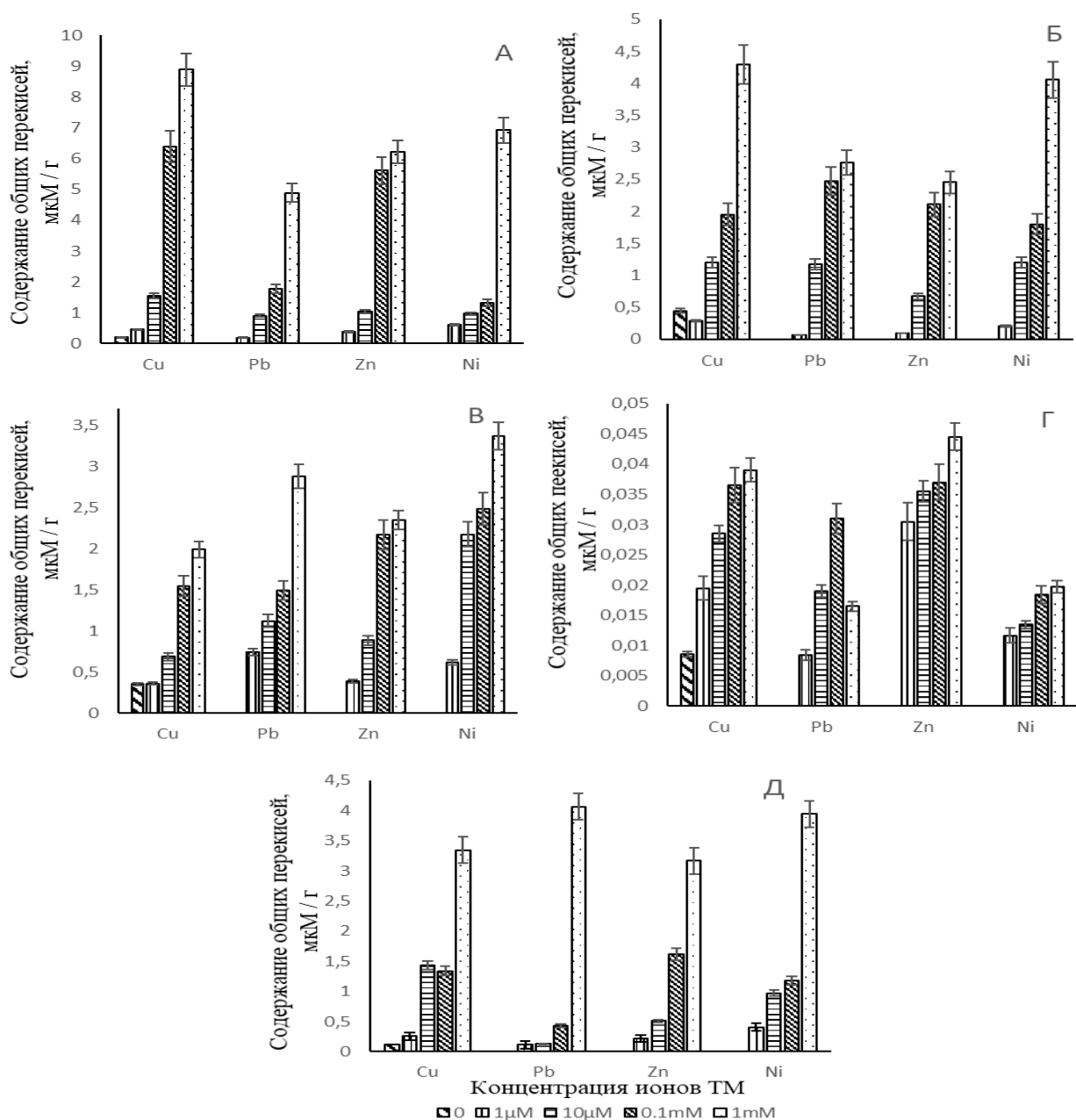


Рисунок 3 – Содержание общих перекисей в листьях растений на фоне ионов ТМ, мкМ/г: А – амарант запрокинутый, Б – марь белая, В – люцерна посевная, Г – лопух паутинистый, Д – одуванчик лекарственный.

Ni^{2+} (52 и 68 %, соответственно). Максимальную активность фермента индуцировали Pb^{2+} (132–312 % к контролю). В листьях люцерны активность каталазы во всех вариантах была выше контроля (см. рис. 4, А), максимальную активность фермента индуцировали ионы Zn^{2+} (в 3–6 раз выше контроля). В растениях мари ионы Zn^{2+} индуцировали минимальную активность каталазы (126–252 % к контролю). При действии ионов Ni^{2+} активность каталазы максимально (в 1,5–4,2 раза) превышала контроль. В отличие от других растений, в листьях лопуха ионы ТМ в дозах 1 и 10 мкМ подавляли активность каталазы (на 12–64 % ниже контроля) (см. рис. 4, Б). Максимальная активность каталазы в листьях лопуха была при действии 1 мМ Ni^{2+} (364 % к контролю). В листьях одуванчика ионы ТМ индуцировали повышенную активность фермента (за исключением 1 мкМ ионов никеля). Минимальная

активность фермента была при действии ионов Ni^{2+} (129 – 386 %), максимальная – Pb^{2+} (в 2,3 – 6,4 раза выше контроля).

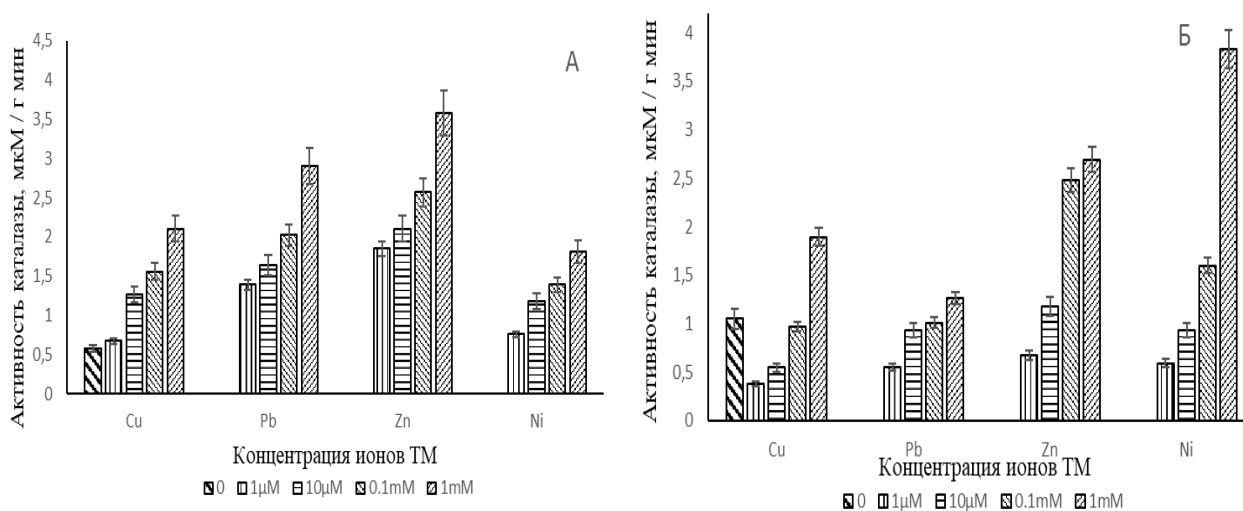


Рисунок 4 – Влияние ионов ТМ на активность каталазы в листьях растений: А – люцерна посевная, Б – лопух паутинистый, % к водному контролю.

Таким образом, токсическое действие ТМ (особенно в высоких концентрациях) на раннем этапе онтогенеза проявляется замедлением роста и накопления биомассы, и возникновением окислительного стресса (Башмаков, Лукаткин, 2009; Гао и др., 2010; Sondil, Bahar, 2011; Louro et al., 2011). В защитных реакциях растений на действие ТМ участвуют антиоксидантные ферменты, активность которых значительно возрастает (Шевякова и др., 2003; Wu et al., 2003; Балахнина и др., 2005; Холодова и др., 2005; Devi, Prasad, 2005). Это приводит к нейтрализации свободных радикалов и пероксидов, образующихся под влиянием ТМ (Devi, Prasad, 2005), что способствует повышению устойчивости.

ГЛАВА 5 ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ И СТОЧНЫХ ВОД ПРЕДПРИЯТИЙ

Фиторемедиация – находящаяся на этапе становления технология, использующая растения для удаления, преобразования или стабилизации загрязняющих веществ, локализованных в воде, отложениях или почвах. Для количественного сравнения величины и характера металлоаккумуляции растениями рассчитывали индекс транслокации (I_t) (рис. 5). Индекс транслокации ТМ в побегах амаранта в большинстве вариантов не превышал 1, что позволяет охарактеризовать этот вид как фитостабилизатор. В качестве фитоэкстрактора амарант выступал в вариантах 1 мкМ Pb^{2+} и Ni^{2+} , 10 мкМ Pb^{2+} и Zn^{2+} , а также 0,1 мМ Cu^{2+} . При выращивании амаранта на растворах, содержащих смесь ТМ, I_t свинца снижался по мере увеличения загрязнения среды, но для остальных ТМ сначала увеличивался (от 1 к 10 мкМ), затем снижался.

В растениях мари белой I_t ионов Pb^{2+} и Zn^{2+} снижался по мере увеличения дозы ТМ в среде, ионов Cu^{2+} – от 1 мкМ до 0,1 мМ. На фоне 1 и 10 мкМ Pb^{2+} и Zn^{2+} , а также 1 мкМ Cu^{2+} растения мари можно отнести к фитоэкстракторам, так как в этих вариантах $I_t > 1$, в остальных вариантах – к фитостабилизаторам. На смеси ТМ индекс транслокации свинца и цинка в растениях мари снижался от низких концентраций к высоким, Ni^{2+} – повышался от 1 мкМ к 10 мкМ, далее стабилизировался; Cu^{2+} – снижался до 0,1 мМ, а затем несколько возростал.

В растениях люцерны индекс транслокации свинца возрастал от 1 мкМ к 0,1 мМ, а затем резко снижался. $I_t \text{ Cu}^{2+}$, наоборот, снижался до 0,1 мМ, а затем несколько повышался. Индекс транслокации Ni^{2+} снижался от 1 к 10 мкМ, а затем повышался до 1 мМ. Во всех вариантах растения люцерны можно отнести к фитостабилизаторам, за исключением 0,1 мМ ионов Pb^{2+} и Zn^{2+} . В отличие от амаранта и мари, при выращивании люцерны на растворе, содержащем смесь ТМ, $I_t > 1$ в подавляющем большинстве вариантов. Соответственно люцерну можно использовать как эффективный фитоэкстрактор на почве с сильным загрязнением ТМ.

У растений лопуха низкий индекс транслокации на фоне всех ТМ, за исключением 1 мкМ Zn^{2+} и Pb^{2+} , а также 10 мкМ Zn^{2+} . I_t свинца, цинка и меди возрастал

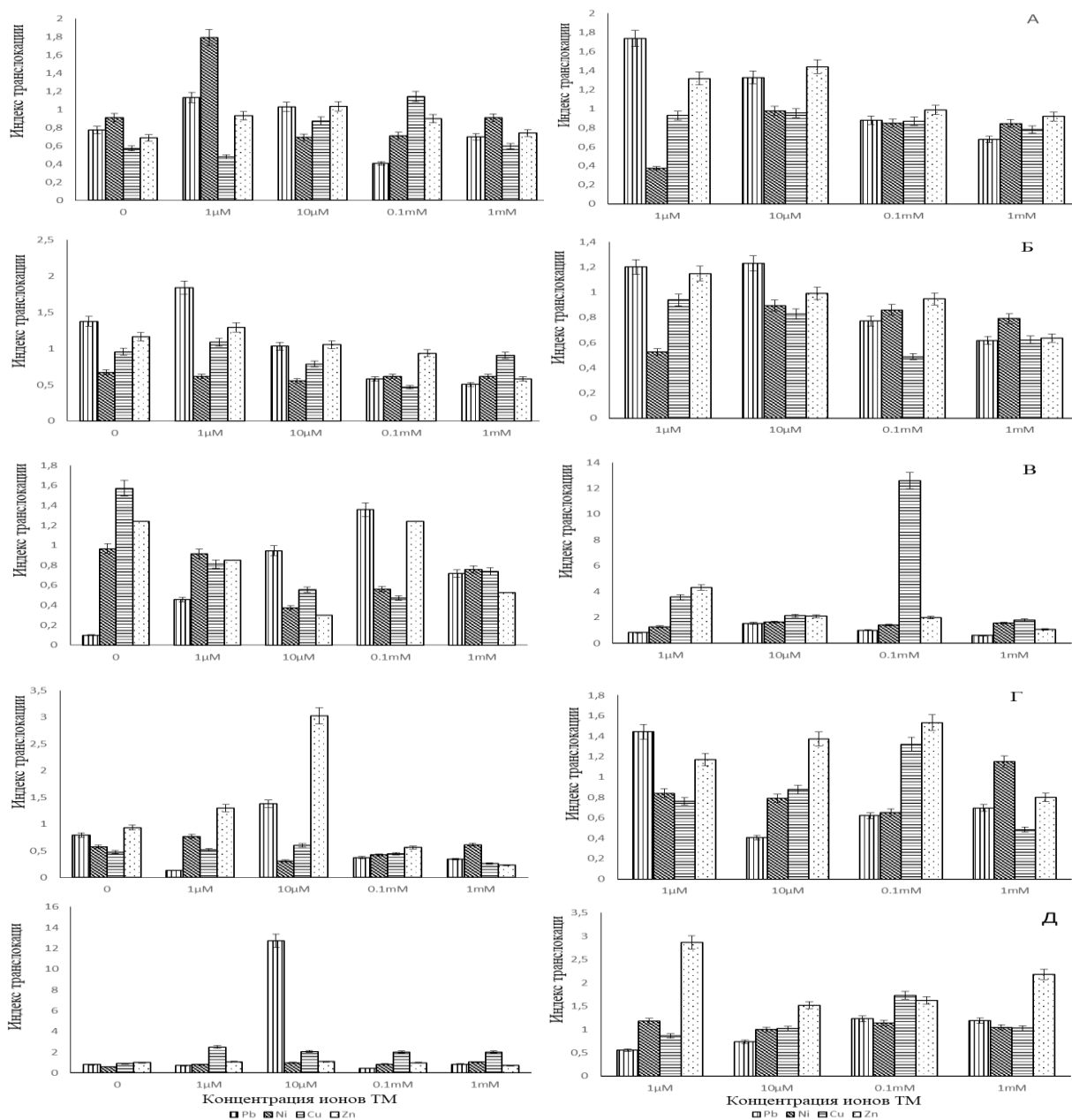


Рисунок 5 – Индекс транслокации ТМ в проростках растений при различном загрязнении среды (слева – одиночные ТМ, справа – смесь ТМ): А – амарант запрокинутый, Б – марь белая, В – люцерна посевная, Г – лопух паутинистый, Д – одуванчик лекарственный.

от 1 к 10 мкМ, затем снижался до 1 мМ; для никеля наблюдалась обратная тенденция: снижение индекса от 1 к 10 мкМ, а затем увеличение до 1 мМ. При выращивании лопуха на смеси ТМ I_t свинца повышался от 10 мкМ к 1 мМ; I_t никеля снижался от 1 мкМ до 0,1 мМ, затем повышался; I_t Cu²⁺ и Zn²⁺ повышался от 1 мкМ до 0,1 мМ ТМ с последующим снижением. Лопух является фитоэкстрактором цинка при низком загрязнении и никеля – при высоком, и фитостабилизатором остальных ТМ.

Транслокация ТМ в побеги одуванчика была низкой в контроле и в варианте с ионами Ni²⁺ (за исключением 1 мМ). Высокий I_t отмечен для Cu²⁺. При экспозиции одуванчика на растворе, содержащем смесь ТМ, индекс транслокации всех изучаемых ТМ > 1, следовательно, одуванчик можно использовать в качестве фитоэкстрактора на почвах как с низким, так и с высоким загрязнением ТМ.

Для определения способности изучаемых растений (являющихся антропогенными космополитами или выращиваемых во многих регионах) удалять ТМ из промышленно-загрязненных вод был проведен модельный опыт с выращиванием растений на образцах промышленных вод, взятых на трех предприятиях г. Багдад (Республика Ирак, Компания Бабель по производству сухих и жидкостных аккумуляторов). Содержание ТМ в органах приведено в табл. 6.

Таблица 6 – Содержание ТМ в органах травянистых растений, выращиваемых 14 суток на промышленной воде предприятий, мг/кг

	Б.1	Б.2	О. Комп.		
	Pb	Pb	Zn	Cu	Pb
Содержание в воде, мг/л	4,95 ± 0,05	1,41 ± 0,24	0,25 ± 0,01	1,21 ± 0,01	7,51 ± 0,001
<i>Arctium tomentosum</i>					
Корень	1,45 ± 0,05	1,41 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,83 ± 0,02	4,94 ± 0,06
стебель	0,65 ± 0,05	0,68 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,01	1,28 ± 0,03
лист	0,36 ± 0,06	0,34 ± 0,04	0,04 ± 0	0,05 ± 0,01	0,83 ± 0,02
<i>Taraxacum officinale</i>					
корень	1,23 ± 0,03	1,45 ± 0,05	0,08 ± 0,01	0,73 ± 0,03	4,74 ± 0,03
стебель	0,73 ± 0,08	0,35 ± 0,01	0,03 ± 0	0,05 ± 0	1,34 ± 0,03
лист	0,51 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,02 ± 0	0,05 ± 0	0,68 ± 0,05
<i>Medicago sativa</i>					
корень	1,71 ± 0,07	1,51 ± 0,05	0,10 ± 0,01	0,98 ± 0,06	5,18 ± 0,09
стебель	0,92 ± 0,04	0,82 ± 0,02	0,05 ± 0	0,07 ± 0	1,41 ± 0,05
лист	0,34 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,03 ± 0	0,05 ± 0	0,75 ± 0,04
<i>Amaranthus retroflexus</i>					
корень	0,91 ± 0,01	0,93 ± 0,03	0,08 ± 0	0,44 ± 0,01	3,03 ± 0,07
стебель	0,52 ± 0,01	0,43 ± 0,03	0,01 ± 0	0,02 ± 0	0,93 ± 0,03
лист	0,42 ± 0,03	0,3 ± 0	0,01 ± 0	0,02 ± 0	0,58 ± 0,07
<i>Chenopodium album</i>					
корень	0,73 ± 0,03	0,79 ± 0,04	0,08 ± 0,01	0,29 ± 0,02	2,78 ± 0,23
стебель	0,32 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,02 ± 0	0,03 ± 0	0,66 ± 0,01
лист	0,3 ± 0	0,3 ± 0	0,02 ± 0	0,02 ± 0	0,61 ± 0,01

Б.1 – Завод Бабель № 1 по производству аккумуляторов; Б.2 – Завод Бабель № 2 по производству аккумуляторов; О. Комп. – Очистные сооружения Объединенной компании по производству аккумуляторов (г. Багдад, Республика Ирак)

При использовании промышленно-загрязненных вод максимальное накопление ТМ отмечено в корнях, а минимальное – в листьях. Обнаружены большие различия среди исследованных видов по поглощению ТМ из загрязненных вод: оно было максимальным при использовании люцерны, на втором месте по аккумуляции ТМ в органах находился лопух, затем одуванчик, амарант, и самые низкие значения аккумуляции выявлены у мари белой.

Для оценки характера металлоаккумуляции рассчитывали индекс аккумуляции. В наибольшей степени в растениях накапливались ионы Pb^{2+} , что можно объяснить самым высоким содержанием данных ионов в промышленной воде предприятия. Индексы аккумуляции всех ТМ снижались от корня к листу, что характеризует исследуемые растения в качестве фитостабилизаторов. По суммарному индексу аккумуляции ионы ТМ расположились для растений в следующем ряду: $Zn^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$, за исключением растений мари ($Cu^{2+} < Zn^{2+} < Pb^{2+}$).

Мы рассчитали примерное количество ТМ, которое можно будет удалить из сточных вод предприятий при использовании исследуемых растений (табл. 7). Проанализировав способность растений аккумулировать ТМ, можно заключить, что все исследуемые виды можно использовать в качестве фиторемедиантов. Однако, с учетом развиваемой биомассы, среди исследованных растений наилучшие показатели извлечения металлов из 1 м³ сточной воды предприятий были у лопуха, с помощью которого можно извлечь от 0,9 до 1,5 мг Zn, и особенно люцерны – от 17 до 18,6 мг Pb и от 5,4 до 9,4 мг Cu.

Таблица 7 – Фиторемедиация, мг ТМ на 1 кубометр воды за 2 недели

	<i>Arctium tomentosum</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>	<i>Chenopodium album</i>
Pb _{max}	13,3 ± 4,2	10,7 ± 3,8	18,7 ± 7,2	8,6 ± 2,8	9,0 ± 0,3
Pb _{min}	13,1 ± 4,1	10,9 ± 4,4	16,9 ± 6,4	8,0 ± 2,8	9,9 ± 0,4
Zn _{max}	1,5 ± 0,2	0,9 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,6 ± 0,0	0,8 ± 0,1
Zn _{min}	0,9 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,6 ± 0,1
Cu _{max}	9,4 ± 1,0	6,5 ± 1,3	11,8 ± 1,4	3,1 ± 0,1	2,7 ± 0,2
Cu _{min}	5,4 ± 0,1	4,6 ± 1,5	5,9 ± 1,2	2,2 ± 0,1	1,8 ± 0,2

Также были выявлены наиболее эффективные потенциальные биоремедиаторы сточных вод. В таблице 8 приведена эффективность одной процедуры фиторемедиации, оцененная по степени очистки воды. Люцерна и лопух наиболее эффективно очищали промышленные воды предприятий г. Багдад от свинца (вынос Pb составил 0,93–1,2% от валового содержания этого металла в воде), цинка (вынос из воды 0,31–0,62 и 0,36–0,59%, соответственно), меди (0,49–0,98 и 0,45–0,78%, соответственно). Однако все эти данные приведены для очень молодых растений (которые росли в течение 2 недель). Если же продлить срок выращивания до 3–4 месяцев, когда растения растут и развивают большую биомассу (до 300 г сухой массы/растение), то эффективность фиторемедиации может достигать 26 – 58%.

Таким образом, ряд видов сорной флоры средней полосы России (*Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus*, *Taraxacum officinale*, *Arctium tomentosum*), а также люцерна посевная (*Medicago sativa*) показали высокую степень аккумуляции ТМ в различных частях растений, и могут рассматриваться как потенциально высокоэффективные фиторемедиаторы загрязненных тяжелыми металлами сточных вод промышленных предприятий. Все эти виды могут произрастать на загрязненных ТМ

Таблица 8 – Степень очистки промышленных сточных вод при проведении одной процедуры фиторемедиации (за 2 недели), % от исходного количества ТМ

	<i>Arctium tomentosum</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>	<i>Chenopodium album</i>
Pb _{min}	0,27 ± 0,08	0,22 ± 0,08	0,38 ± 0,15	0,17 ± 0,06	0,18 ± 0,01
Pb _{max}	0,93 ± 0,33	0,77 ± 0,34	1,20 ± 0,50	0,57 ± 0,22	0,70 ± 0,12
Zn _{min}	0,36 ± 0,03	0,24 ± 0,07	0,31 ± 0,06	0,17 ± 0,01	0,22 ± 0,03
Zn _{max}	0,59 ± 0,08	0,34 ± 0,07	0,62 ± 0,11	0,24 ± 0,01	0,33 ± 0,04
Cu _{min}	0,45 ± 0,01	0,38 ± 0,13	0,49 ± 0,10	0,18 ± 0,01	0,15 ± 0,02
Cu _{max}	0,78 ± 0,09	0,54 ± 0,11	0,98 ± 0,11	0,25 ± 0,01	0,22 ± 0,01

территориях, поэтому они представляют собой металлоустойчивые растения, что представляет биологическую основу их ремедиационного потенциала.

Для проведения очистки промышленно-загрязненных вод предприятий с использованием изученных видов травянистых растений (которые являются мезофитами или ксеромезофитами) предлагается следующая схема ремедиационного мероприятия. Сточную воду следует разлить тонким слоем (порядка 10 см) на поверхности почвы, в которую внесены семена растений-ремедиаторов. По мере роста растений на опытные участки добавлять сточные воды. Поскольку концентрация ТМ в промышленно-загрязненных водах предприятий обычно невысока (по данным с заводов по производству аккумуляторов г. Багдад, Республика Ирак – суммарно около 58 мкМ/л), то акклиматизированные к ТМ растения смогут легко переносить эти дозы и расти в течение всего вегетационного периода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние ТМ на растения изучается на протяжении нескольких десятилетий, и значительное число публикаций, в т.ч. появившихся за последние годы, свидетельствует о стойком внимании к этой теме. Однако многие вопросы распределения ТМ, их токсического действия и механизмов ответа клеток на их избыток до сих пор остаются мало изученными. Недостаточно исследовано видовое разнообразие растений, способных произрастать на загрязненных ТМ почвах. Знание устойчивости растений к загрязнению ТМ необходимо для решения вопросов, связанных, с одной стороны, с возможностью их возделывания на загрязненной почве, а с другой – с использованием для фиторемедиации, являющейся наиболее перспективным способом очистки и восстановления свойств загрязненных почв (Farrell, 2000).

Полученные данные показывают, что аккумулируемые ионы ТМ индуцируют в клетках растений окислительный стресс, который является одним из компонентов (возможно, наиболее важным) сложного механизма неблагоприятного воздействия ТМ на растения. Усиленное образование АФК, с одной стороны, приводит к окислительному стрессу, негативно влияя на все физиологические процессы в растении; с другой стороны, АФК являются сигнальными молекулами, которые принимают участие в запуске адаптационных механизмов (Титов и др., 2014). Окислительный стресс, возникающий при действии ТМ, тесно связан с повреждением мембран. В результате нарушений физиологических и биохимических процессов на клеточном уровне в растениях наблюдаются существенные изменения роста. В нашем эксперименте наблюдали значительное торможение роста осевых органов молодых растений, прогрессирующее с увеличением дозы ТМ.

Неослабевающий интерес к проблеме устойчивости растений к ТМ связан не только с фундаментальной научной составляющей, но и с практической значимостью таких исследований, поскольку позволит подобрать растения, подходящие для фиторемедиации. В работе продемонстрировано, что все исследованные растения сорной флоры средней полосы России (*Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus*, *Taraxacum officinale*, *Arctium tomentosum*), а также люцерна посевная (*Medicago sativa*) аккумулировали ТМ в значительной степени, и с увеличением концентрации ТМ в среде возрастало их содержание в органах исследуемых растений. В растениях амаранта ионы никеля накапливались преимущественно в корне, тогда как ионы цинка – в стебле; содержание ионов меди возрастало по мере транспорта по растению от корня к листьям, в которых достигало своего максимума. В растениях мари белой свинец, медь и никель в большей степени аккумулировались в листьях, а содержание цинка возрастало от листа к корню при низком загрязнении и от корня к листу при высоком. В отличие от амаранта, где выявлены индивидуальные особенности накопления определенных ТМ, в растениях люцерны максимальное накопление всех ТМ отмечено в стеблях, затем в листьях и минимальное в корнях. Содержание цинка в органах люцерны было минимальным, а ионов меди – максимальным. При экспозиции растений лопуха на растворе, содержащем какой-либо один исследуемый металл, не выявлено конкретных тенденций по накоплению металла в осевых органах. В растениях одуванчика никель и медь в наибольшей степени накапливались в стеблях, тогда как содержание цинка увеличивалось от корня к листу.

По распределению ТМ по органам растений их можно отнести к исключителям или аккумуляторам, а по индексу транслокации к фитоэкстракторам или фитостабилизаторам. Поскольку в амаранте ТМ аккумулировались в большей степени в корнях, чем в надземных органах, его можно отнести к видам исключителям ТМ и фитостабилизаторам. Марь белую можно отнести к фитостабилизаторам, а также исключителям при высоком загрязнении среды ТМ. При экспозиции люцерны на растворах, содержащих один из изучаемых ТМ, люцерна выступает в качестве исключителя и фитостабилизатора, тогда как в варианте со смесью ТМ – в качестве аккумулятора и фитоэкстрактора. Лопух паутинистый является аккумулятором цинка и исключителем остальных ТМ. Одуванчик можно охарактеризовать как эффективный аккумулятор ТМ и, соответственно, фитоэкстрактор.

В модельном опыте показана способность изученных растений аккумулировать ТМ не только в лабораторных условиях, но и из промышленно-загрязненных вод предприятий. О степени и характере металлоаккумуляции судили по индексу аккумуляции. В наибольшей степени в растениях накапливались ионы Pb^{2+} , что можно объяснить наибольшим содержанием данных ионов в промышленной воде предприятия. Индексы аккумуляции всех ТМ снижались от корня к листу, что характеризует исследуемые растения в качестве фитостабилизаторов. По суммарному индексу аккумуляции ионы ТМ расположились для растений в следующем ряду: $Zn^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$, за исключением растений мари ($Cu^{2+} < Zn^{2+} < Pb^{2+}$). Таким образом, травянистые растения, которые широко распространены не только в средней полосе Российской Федерации, но и во всей Голарктике (в том числе в Республике Ирак), могут быть использованы для эффективной очистки промышленно-загрязненных вод предприятий. Среди исследованных видов растения люцерны посевной наиболее эффективны по степени очистки от загрязнения ионами ТМ, затем лопух большой, одуванчик лекарственный, марь белая и амарант запрокинутый.

ВЫВОДЫ

1. Аккумуляция ТМ в органах травянистых растений возрастала с увеличением дозы металлов в среде; при выращивании растений на полиэлементных растворах ионы ТМ аккумулировались менее интенсивно, чем из моноэлементных растворов ТМ. Аккумуляция ТМ в растениях амаранта запрокинутого увеличивалась в ряду $\text{Cu} - \text{Ni} - \text{Pb} - \text{Zn}$, люцерны посевной – $\text{Cu} - \text{Pb} - \text{Ni} - \text{Zn}$, одуванчика лекарственного – $\text{Zn} - \text{Ni} - \text{Pb} - \text{Cu}$. В растениях мари белой аккумуляция ТМ из растворов с низкими дозами металлов возрастала в ряду $\text{Ni} - \text{Cu} - \text{Pb} - \text{Zn}$, тогда как с высокими дозами – $\text{Cu} - \text{Ni} - \text{Zn} - \text{Pb}$. аккумулировались ионы Cu^{2+} . Для лопуха паутинистого закономерности аккумуляции определенных ТМ не выявлены.

2. Токсическое действие ТМ прослеживается по ингибированию роста. С увеличением дозы ионов металлов в среде уменьшались размеры осевых органов (корней и надземной части), а также сырая и сухая масса. Максимальное подавление роста у амаранта выявлено в вариантах с внесением ионов Cu^{2+} (побег) и Pb^{2+} (корень), у мари белой и люцерны самое негативное действие на рост корня и побега оказали ионы никеля, на рост корня лопуха паутинистого максимально отрицательное влияние оказали ионы Cu^{2+} (рост побега не ингибировался), наиболее токсичное действие на рост органов одуванчика оказали ионы Pb^{2+} и Ni^{2+} . Минимальное влияние ТМ на рост осевых органов всех исследованных видов оказали ионы Zn^{2+} .

3. Ионы ТМ индуцировали возникновение окислительного стресса в клетках листьев травянистых растений. Максимальное повышение скорости генерации супероксидного анион-радикала индуцировали ионы свинца во всех растениях, за исключением люцерны посевной (ионы меди). Интенсивность перекисного окисления липидов была максимальной при действии ионов цинка в листьях растений амаранта, мари и люцерны, при действии свинца – в листьях лопуха и при действии никеля – в листьях одуванчика. Наибольшее содержание общих перекисей отмечено на фоне ионов Ni^{2+} в листьях люцерны, на фоне Zn^{2+} – в листьях лопуха и одуванчика, на фоне Cu^{2+} – в листьях амаранта.

4. Максимальное повышение активности каталазы, указывающее на усиление антиоксидантной защиты растений, индуцировали ионы Ni^{2+} в листьях мари и лопуха, ионы Zn^{2+} в листьях люцерны и одуванчика, а также ионы Pb^{2+} в листьях амаранта.

5. Индексы транслокации всех ТМ снижались от корня к листу, что характеризует исследуемые растения в качестве фитостабилизаторов, на некоторых концентрациях определенных ТМ – в качестве фитоэкстракторов. По суммарному индексу аккумуляции ионы ТМ расположились для растений в следующем ряду: $\text{Zn}^{2+} < \text{Cu}^{2+} < \text{Ni}^{2+} < \text{Pb}^{2+}$, за исключением растений мари ($\text{Cu}^{2+} < \text{Zn}^{2+} < \text{Ni}^{2+} < \text{Pb}^{2+}$). Все растения на основании индексов аккумуляции могут быть отнесены к исключителям ТМ (амарант) или аккумуляторам ТМ (марь, одуванчик), но в ряде случаев отнесение растений к исключителям или аккумуляторам (люцерна, лопух) зависит от вида ТМ и их концентрации.

6. Все исследуемые растения могут быть использованы в качестве фиторемедиантов для очистки сточных вод предприятий. Растения люцерны посевной наиболее эффективны по степени очистки от загрязнения ионами ТМ, затем лопух большой, одуванчик лекарственный, марь белая и амарант запрокинутый. Вынос ТМ за 2 недели культивирования растений люцерны и лопуха, наиболее эффективно очищавших промышленные воды предприятий по производству аккумуляторов, составил 0,93–1,2 % от валового содержания Pb в воде, 0,31–0,62 % цинка, 0,45–0,98 % меди. С удлинением сроков выращивания эффективность фиторемедиационной очистки сточных вод предприятий может достигнуть 26–58 %.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в научных журналах, включенные в перечень ВАК РФ

1. **Waad E.Q. Al Harbawee**, Alina N. Kluchagina, Naser A. Anjum, Dmitry I. Bashmakov, Alexander S. Lukatkin, Eduarda Pereira. Evaluation of cotton burdock (*Arctium tomentosum* Mill.) responses to multi-metal exposure // Environmental Science and Pollution Research. 2017. 24(6), 5431-5438. (Web of Science, Scopus)

2. Башмаков Д. И., **Аль-Харбави Е. Д. В.**, Башмакова Д. Д., Лукаткин А. С. Исследование потенциальной способности *Amaranthus retroflexus* L. к фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3(1). С. 29–35. (ВАК)

Статьи в других научных изданиях

3. **Al Harbawee W. E. Q.**, Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. *Medicago sativa* L. как модельный объект для изучения влияния тяжелых металлов на растения // Управление качеством образования, продукции и окружающей среды: материалы 9-й Всероссийской научно-практической конференции 13 ноября – 14 ноября 2015 года / под ред. д.т.н., профессора А.Г. Овчаренко. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2015. – С. 288–291.

4. **Al Harbawee W.E.Q.**, Bashmakov D.I., Lukatkin A.S. The use of alfalfa (*Medicago sativa* L.) plant to removal a mixture of heavy metals // Биологические аспекты распространения, адаптации и устойчивости растений: материалы Всерос. (с междунар. участием) науч. конф. (Саранск, 15 – 18 мая 2016 г.). – Саранск: Изд-во Мордов.ун-та, 2016. – С. 11–13.

5. Harith J. F. Al-Mathkhury, Adnan H. Afaj, **Waad Emad Kasid**. Bioremoval of lead from aquatic environment by immobilized cells of *Enterobacter* spp. // Conference on Plants & Environmental Pollution, 6-11 July 2009, Kayseri – Turkey.

6. Harith Jabbar Fahad Al-Mathkhury, Adnan Hasan Afaj, **Waad Emad Kasid**. Bioremoval of aquatic environment lead by immobilized cells of *Enterobacter* spp. // Journal of Life Sciences.– 2011.– V.5. – P. 967-973.

7. **Waad Emaduldeen Kasid**, Farqad Abdullah Rashid, Suheir Khalaf Najm, Baida Mal Allah Ali, Alaa TahaYasin, Soha Ghaleb Sabri. Effect of concentrations of mercury and lead measured in practice from environmental and biological samples on workers' health In Al-Furat Company in the Republic of Iraq // International Journal for Sciences and Technology. 2012. Vol. 7, No. 3. P. 127.

8. **Аль Харбавии В. Э. К.**, Башмаков Д. И., Лукаткин А. С. Оценка фиторемедиационного потенциала мари белой в условиях модельного эксперимента // Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Книга 1. (г. Киров, 23–24 апреля 2018 г.) Киров: ВятГУ, 2018. – С. 122–126.

9. **Аль Харбавии В.Э.К.**, Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Оценка фиторемедиационного потенциала травянистых растений средней полосы России для очистки сточных вод промышленных предприятий от тяжелых металлов // Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды: Сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых, Иркутск, 10–15 июля 2018 г. – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – В 2-х частях. Часть II. – С. 1021–1024.