

УДК 634.0.5:582.475.2

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ СВИНЦОМ И КАДМИЕМ
И ИХ ВЛИЯНИЕ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
РАСТЕНИЯ КУКУРУЗЫ (*ZEA MAYS L.*) И ОЦЕНКУ ПРОЦЕССА
ФИТОЭКСТРАКЦИИ Pb-Cd ИЗ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

М.А.-Х. Аль Аруд, И.Е. Автухович

(Кафедра безопасности жизнедеятельности РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева)

Кадмий и свинец оказали токсическое воздействие на растения кукурузы (*Zea mays L.*), о чем свидетельствовало снижение содержания хлорофиллов *a*, *b* и каротина в них. В связи с высокой токсичностью тяжелых металлов для растений необходимо осуществлять поиск методов очистки и восстановления загрязненных почв и грунтов. Показана высокая эффективность применения хелатообразующего агента ЭДТА, примененного в высоких дозах, для повышения интенсивности фитоэкстракции Pb и Cd.

Ключевые слова: фиторемедиация, фитоэкстракция, кадмий, свинец, ЭДТА, кукуруза.

Большинство тяжелых металлов поступает в окружающую среду при использовании удобрений, пестицидов, промышленных отходов и сточных вод [7]; в результате извержений вулканов и лесных пожаров, а также вследствие деятельности промышленности и транспорта.

Тяжелые металлы вызывают токсические повреждения ДНК, оказывают канцерогенные эффекты на человека и животных, часто являются причиной мутаций. При свинцовом токсикозе поражаются в первую очередь органы кроветворения (анемия), нервная система (энцефалопатия и нейропатия) и почки (нефропатия). Отравление свинцом у детей является причиной неврологических повреждений, в результате чего снижается уровень интеллекта, может возникнуть кратковременная потеря памяти, появляются трудности в обучении и проблемы с координацией движений. Воздействие кадмия вызывает целый ряд токсических явлений, таких как гипертония, поражение кожных покровов, семенников и яичников. При накоплении в почках кадмий вызывает ряд их заболеваний. Наиболее тяжелой формой хронического отравления кадмием является болезнь итай-итай, характеризующаяся деформацией скелета с заметным уменьшением роста, поясничными болями, болезненными явлениями в мышцах ног, утиной походкой и частыми переломами костей, даже при кашле [2, 13].

Поллютанты могут получать доступ к живым организмам несколькими способами: по воздуху, с последующей седиментацией в воде и почве; через загрязненную поливную воду, а также посредством накопления в пищевой цепи. Все это может причинить большой вред растениям, животным и человеку [6]. Загрязнение почвы металлами отличается от загрязнения ими воздуха и воды, так как тяжелые металлы сохраняются в почве в течение гораздо более длительного периода, чем в других частях биосферы [11]. Так, период полуудаления свинца и кадмия из почвы достигает соответственно 5900 и 110 лет [4].

Влияние тяжелых металлов на живые организмы и окружающую среду в значительной степени зависит от концентрации поллютантов, их растворимости, типа почвы, ее pH, минералогического и механического состава, биологических особенностей животных, растений и человека.

Высокие концентрации тяжелых металлов в почвах оказывают токсическое влияние на растения, что влечет за собой снижение урожайности и может привести к их гибели. При этом пагубное воздействие тяжелых металлов на растения значительно усиливается, когда они присутствуют в почве в совокупности по сравнению с влиянием от того или иного металла в отдельности. Так, в эксперименте с ячменем в варианте, где почва была загрязнена несколькими тяжелыми металлами: Zn, Si, Co, Ni, Cd и Pb, зарегистрировано более существенное снижение урожайности по сравнению с вариантами с загрязнением каждым из этих металлов в отдельности, что свидетельствует о существовании явления синергизма [12].

Вопрос изучения механизмов поступления тяжелых металлов в растения и их влияния на ростовые и физиологические характеристики требует всесторонних исследований с целью последующего управления процессами в системе почва — растение и поиска путей очистки и восстановления загрязненных территорий.

Для очистки почв и грунтов, загрязнённых тяжёлыми металлами, применяются интенсивные и экстенсивные технологии. Интенсивные методы рекультивации почв являются весьма дорогостоящими и, кроме этого, нарушают почвенное плодородие, делая почву безжизненной и непригодной для выращивания растений. Наименьшую стоимость на сегодняшний день имеют экстенсивные биотехнологии, которые рассчитаны на более длительный срок и не требуют больших материальных и энергетических затрат. Биоремедиация входит в группу таких экономически выгодных и экологически оправданных технологий и в определённых условиях имеет ряд неоспоримых преимуществ перед другими методами очистки загрязнённых почв. Составной частью биоремедиации является одна из наиболее популярных, сравнительно недорогих и относительно безвредных технологий очистки почв — фиторемедиация на основе фитоэкстракции.

Фитоэкстракция — это удаление тяжелых металлов из загрязненных субстратов путем длительного выращивания растений, в дальнейшем не используемых в пищу. В этом случае живые растения экстрагируют металлы из почв или грунтов, а загрязненная биомасса подлежит переработке с целью добычи из них металлов или захоронения.

Для повышения эффективности процесса фитоэкстракции используются хелатообразующие агенты, в частности ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Положительная роль ЭДТА в процессе фиторемедиации уже доказана многими учеными [1, 3, 5, 8, 9, 10 и др.].

Хелатообразующие агенты, с одной стороны, увеличивают подвижность металлов в грунте и их доступность для растений [3], с другой — играют роль транспортного средства в растении, повышая растворимость, снижая токсичность тяжелых металлов (в случае применения хелатообразующих агентов в низких дозах), обеспечивая прохождение поясков Каспари в пределах эндодермы и устраняя осаждение и связывание токсикантов [8]. В результате этого металлы, поступающие в растения в составе комплексного соединения, беспрепятственно проходят путь от корня к стеблю и обнаруживаются преимущественно в надземных органах, что увеличивает эффективность очистки почв и грунтов.

Для изучения влияния тяжелых металлов на растения и поиска возможности очистки загрязненного грунта биологическим методом нами были произведены ком-

плексные исследования, состоящие из двух частей, целью которых было: 1 — изучить влияние различных концентраций свинца и кадмия на некоторые физиологические характеристики растений кукурузы (содержание хлорофиллов *a*, *b* и содержание каротина); 2 — изучить влияние различных доз ЭДТА, внесенных в загрязненный свинцом и кадмием грунт, на фитоэкстракцию этих поллютантов.

Методика

Для изучения влияния различных концентраций свинца и кадмия на содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротина в растениях кукурузы (*Zea mays L.*) был взят грунт, изначально незагрязненный этими металлами с последующим их внесением в виде солей $Pb(NO_3)_2$ и $Cd(NO_3)_2$. В эксперименте использовали по 3 параллельных сосуда для каждого варианта, рассчитанных на 5 кг грунта, в каждый из которых было высажено по 5 растений в возрасте 40 дней. После этого в сосуды были внесены соли тяжелых металлов в концентрациях: 0; 10^{-5} ; 10^{-4} ; 10^{-3} и 10^{-2} моль/л согласно схеме опыта. Варианты опыта были сформированы по концентрациям вносимых поллютантов. Определение хлорофиллов *a*, *b* и каротина осуществлялось через 8 и 16 дней после внесения кадмия и свинца. Данный эксперимент был повторен еще раз.

Определение хлорофиллов *a*, *b* и каротина осуществлялось по методике (MacLachlan Zalik, 1963) с последующим определением указанных характеристик с помощью спектрофотометра при длинах волн 440, 644 и 662 и расчетом с использованием следующих уравнений:

$$\text{Хлорофилл } a = (9,784 \cdot E_{662} - 0,99 \cdot E_{644}) \text{ В/м};$$

$$\text{Хлорофилл } b = (21,462 \cdot E_{664} - 4,65 \cdot E_{662}) \text{ В/м};$$

$$\text{Каротин} = (4,695 E_{440} - 0,268 \cdot (5,134 \cdot E_{662} + 20,4436 \cdot E_{644})) \text{ В/м}.$$

В конце эксперимента был проведен статистический анализ и оценка результатов исследований с использованием программы статистической обработки ANOVA на 5%-м и 1%-м уровне значимости.

Для изучения влияния хелатообразующего агента ЭДТА, внесенного в дозах 0; 20; 30 и 40 ммоль/кг в модельный грунт, на способность кукурузы экстрагировать кадмий и свинец в разные сроки был заложен и проведен двухлетний эксперимент в Сирии в вегетационных сосудах Митчерлиха в 2-кратной повторности. Для исследований был использован модельный грунт рН=6,2 и содержанием валовых форм: Pb — 682; Cd — 102; Си — 1298; Zn — 2165,8 Fe — 18555; Ni — 657 мг/кг грунта. Масса грунта в каждом сосуде составляла 5 кг. В процессе проведения эксперимента осуществлялся регулярный уход за растениями и их полив, с последующим возвратом поливной воды, просочившейся сквозь грунт, в сосуды из поддонов. Через 6; 12 и 25 дней после внесения хелатообразующего агента ЭДТА в дозах соответственно 0; 20; 30 и 40 ммоль/кг грунта осуществляли отбор растительных образцов для определения в них свинца и кадмия с целью изучения динамики фитоэкстракционного процесса. Подготовка образцов растений и грунта к анализу осуществлялась по общепринятым методикам с последующим определением содержания металлов в вытяжках на атомно-абсорбционном спектрофотометре Perkin Elmer.

Результаты и их обсуждение

В результате изучения влияния разных концентраций свинца и кадмия на содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротина было выявлено, что использование свинца привело в целом к уменьшению содержания хлорофиллов *a*, *b* и каротина, и это сни-

жение увеличивалось с течением времени (табл. 1). Обнаружена взаимосвязь между ухудшением физиологических характеристик и снижением ростовых параметров растений кукурузы.

Таблица 1

Влияние различных концентраций свинца на содержание хлорофилла а, b и каротина в растениях кукурузы (*Zea mays L.*), мг/г сырой массы

Концентрация свинца	Время экспозиции					
	8 дней			16 дней		
	хлорофилл а	хлорофилл b	каротин	хлорофилл а	хлорофилл b	каротин
0	0,580	0,169	0,203	1,236	0,431	0,452
ю ⁻⁵	0,830	0,330	0,209	0,679	0,398	0,377
ю ⁻⁴	0,670	0,270	0,189	0,487	0,223	0,148
ю ⁻³	0,490	0,138	0,163	0,235	0,169	0,054
ю ⁻²	0,390	0,118	0,112	0,021	0,009	0,021
НСП ₀₅	0,032	0,018	0,021	0,042	0,014	0,025
НСП ₀₁	0,044	0,024	0,031	0,062	0,018	0,036

Через 8 дней после внесения свинца в концентрации 10^{-2} содержание хлорофилла *a* снизилось на 67% по сравнению с контролем. При концентрациях свинца 10^{-4} и 10^{-5} содержание хлорофиллов и каротина, напротив, повысилось, вероятно, вследствие положительного влияния нитратов на растения, входящих в состав солей, внесенных в грунт (см. табл. 1). Через 16 дней содержание хлорофилла *a* в растениях уменьшилось на 84 и 45% по сравнению с контролем при концентрациях соответственно 10^{-5} и 10^{-2} .

Уменьшение содержания хлорофилла *a* в растениях оказалось менее существенным по сравнению с хлорофиллом *b*. Так, через 8 дней снижение содержания хлорофилла *b* составило 69% по сравнению с контролем при концентрации 10^{-2} , через 16 дней его содержание в растениях уменьшилось на 79 и 8% по сравнению с контролем при концентрациях 10^{-5} и 10^{-2} .

Влияние свинца также негативно отразилось на содержании каротина. Так, через 8 дней содержание каротина уменьшилось на 45% по сравнению с контролем при концентрации Pb 10^{-2} , внесенного в грунт. Через 16 дней содержание каротина в растениях сильно снизилось и достигло 5% от контроля при концентрации свинца, внесенного в грунт 10^{-2} .

Пагубное влияние кадмия на растения оказалось менее выраженным по сравнению со свинцом (табл. 2). Так, снижение содержания хлорофилла *a* через 8 дней после внесения кадмия составило 22,5% при концентрации кадмия 10^{-2} , а через 16 дней достигло 78,5% по сравнению с контролем при той же концентрации. Снижение хлорофилла *b* через 8 дней после внесения кадмия составило 7%, а через 16 дней — 87% от контроля при концентрации кадмия 10^{-2} (см. табл. 2).

Уменьшение содержания каротина через 8 дней после внесения поллютанта составило 12% от контроля при концентрации кадмия 10^{-2} , а через 16 дней при концентрации кадмия 10^{-5} достигло 12 и 77% при концентрации 10^{-2} (см. табл. 2).

В результате проведенных исследований по изучению влияния различных доз ЭДТА на фитоэкстракционную способность кукурузы нами установлено, что хелато-

Влияние различных концентраций кадмия на содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротина в растениях кукурузы (*Zea mays L.*), мг/г сырой массы

Концентрация свинца	Время экспозиции					
	8 дней			16 дней		
	хлорофилл <i>a</i>	хлорофилл <i>b</i>	каротин	хлорофилл <i>a</i>	хлорофилл <i>b</i>	каротин
0	0,580	0,169	0,203	1,236	0,431	0,452
10 ⁻⁵	0,720	0,260	0,266	1,199	0,414	0,396
10 ⁻⁴	0,690	0,222	0,251	0,756	0,256	0,144
10 ⁻³	0,590	0,213	0,280	0,583	0,224	0,076
10 ⁻²	0,450	0,158	0,158	0,266	0,056	0,057
HCP ₀₅	0,034	0,016	0,025	0,046	0,015	0,027
HCP ₀₁	0,044	0,024	0,031	0,062	0,018	0,036

образующий агент значительно повышает накопление свинца и кадмия растениями, при этом наиболее существенное усиление фитоэкстракционного процесса достигнуто при применении ЭДТА и в самой высокой дозе 40 ммоль/кг грунта при наибольшей экспозиции 25 дней. Так, накопление свинца и кадмия растениями кукурузы при дозе Pb и 40 ммоль/кг грунта через 25 дней составило соответственно 211,09 и 53,68 мг/кг. Самое низкое накопление Pb и Cd кукурузой отмечено в контрольном варианте, где хелатообразующие агенты не вносили, при 6-дневной экспозиции, соответственно 0,87 и 1,93 мг/кг абсолютно сухой массы (рис. 1 и 2).

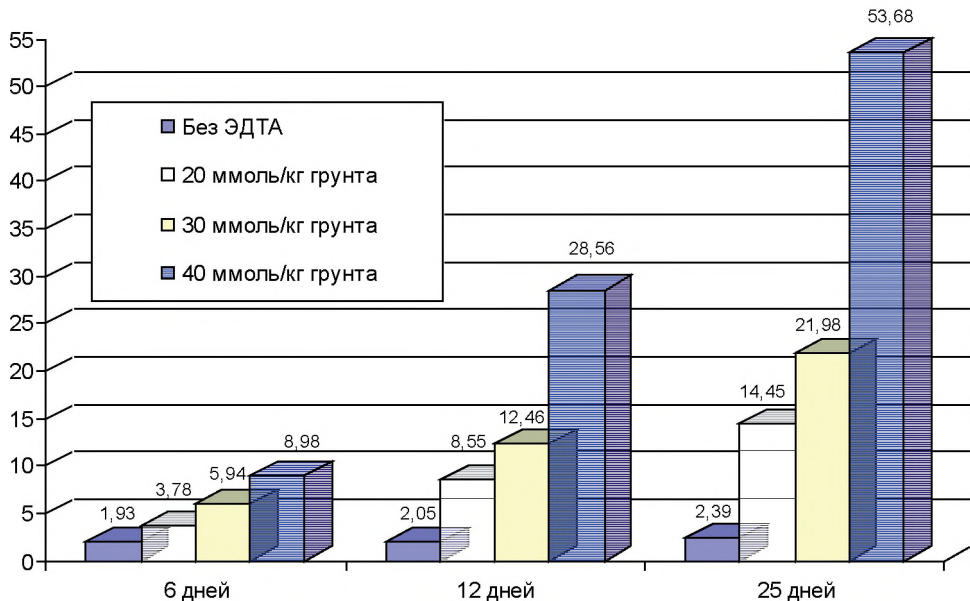


Рис. 1. Зависимость накопления Cd (мг/кг) растениями кукурузы (*Zea mays L.*) от доз хелатообразующего агента ЭДТА (ммоль/кг), внесенного в грунт, и времени экспозиции (дни)

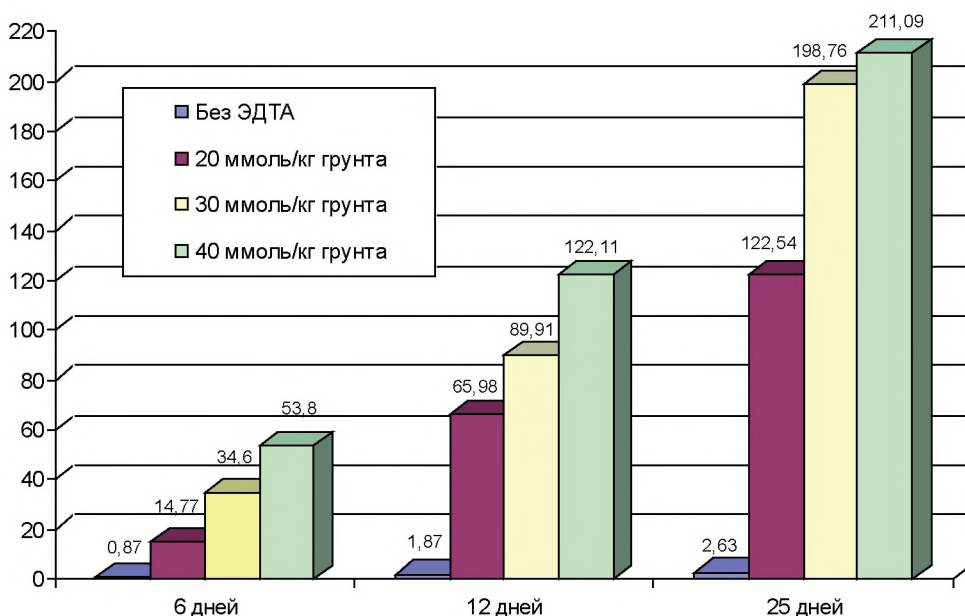


Рис. 2. Зависимость накопления Pb (мг/кг) растениями кукурузы (*Zea mays* L.) от доз хелатообразующего агента ЭДТА (ммоль/кг), внесенного в грунт, и времени экспозиции (дни)

Исследования динамики накопления поллютантов под действием ЭДТА показали, что в контрольном варианте (без применения хелатообразующих агентов) за время между первым и вторым определением содержание кадмия в растениях увеличилось в 1,1 раза, а между первым и третьим — в 1,2 раза. В вариантах с применением ЭДТА процесс накопления данного поллютанта растениями оказался более динамичным. Так, при дозах хелатообразующих агентов 20 и 30 ммоль/кг грунта за период между первым и вторым определением накопление кадмия в растениях увеличилось в среднем в 2,2 раза, между первым и третьим — в 3,4 раза. При дозе ЭДТА 40 ммоль/кг грунта концентрация кадмия в растениях между первым и вторым определением возросла в среднем в 3 раза, а между первым и третьим — в 6 раз (см. рис. 1).

Накопление свинца растениями кукурузы в контрольном варианте при втором определении увеличилось в 2,2 и 3 раза при третьем определении по сравнению с первым (см. рис. 2). В варианте, где препарат ЭДТА был внесен в дозе 20 ммоль/кг, процесс накопления свинца оказался наиболее интенсивным. Так, аккумуляция свинца при втором определении увеличилась в 4,5 раза, а при третьем — в 8,3 раза по сравнению с первым определением. Далее при увеличении дозы ЭДТА динамика накопления свинца снижается. Так, при дозах ЭДТА 30 и 40 ммоль/кг грунта концентрация Pb в растениях между первым и вторым определением увеличилась соответственно в 2,6 и 2,3 раза, а между вторым и третьим — в 5,8 и 4 раза (см. рис. 2).

Нами были найдены прямые линейные зависимости накопления свинца и кадмия растениями кукурузы от доз хелатообразующих агентов ЭДТА, внесенных в грунт, при экспозиции 6, 12 и 25 дней. Так, зависимости накопления свинца растениями от доз ЭДТА при экспозиции 6, 12 и 25 дней выражаются следующими уравнениями:

$$y = 17,86x - 18,65 (R^2 = 0,99), y = 38,46x - 26,20 (R^2 = 0,95)$$

$$\text{и } y = 70,16x - 41,65 (R^2 = 0,89).$$

Взаимосвязь между аккумуляцией кадмия кукурузой (*Zea mays L.*) и дозами ЭДТА при экспозиции 6, 12 и 25 дней выражается соответствующими уравнениями:

$$y = 2,33x - 0,67 (R^2 = 0,99), y = 8,34x - 7,96 (R^2 = 0,91)$$

$$\text{и } y = 16,13x - 17,20 (R^2 = 0,90).$$

В результате применения хелатообразующих агентов существенно увеличилось коэффициенты биологического поглощения, представляющие собой отношение содержания металла в растении, выраженное в мг/кг абсолютно сухой массы, к его содержанию в грунте, мг/кг (рис. 3).

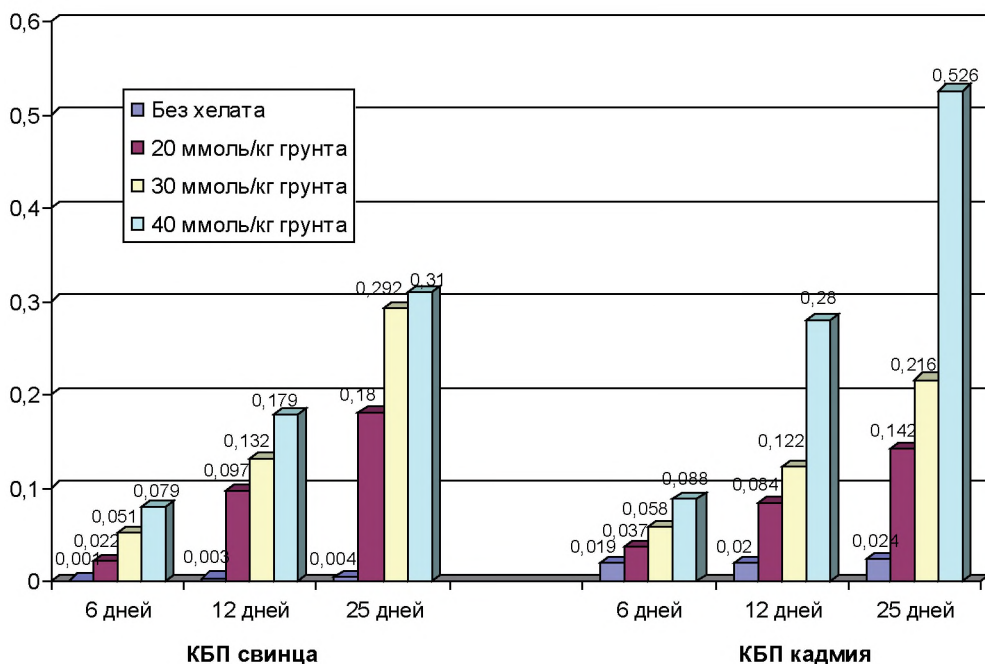


Рис. 3. Коэффициенты биологического поглощения (КБП) Pb и Cd растениями кукурузы (*Zea mays L.*) при разной экспозиции (6, 12 и 25 дней) и разных дозах ЭДТА (20, 30 и 40 ммоль/кг грунта)

Так, самые низкие коэффициенты биологического поглощения свинца и кадмия в эксперименте отмечены в контрольных вариантах при экспозиции 6 дней — 0,001 и 0,019 и самые высокие — в варианте с применением ЭДТА в дозе 40 ммоль/кг грунта при экспозиции 25 дней, соответственно 0,310 и 0,526 (см. рис. 3).

Закключение

Результаты исследований показали, что кадий и свинец отрицательно влияет на физиологические характеристики растений, что выражается в снижении содержания хлорофиллов *a*, *b* и каротина.

Применение хелатообразующего агента ЭДТА в высоких дозах является перспективным приемом, усиливающим поглощение и вынос поллютантов, следовательно, и интенсив-

ность фиторемедиационного процесса, способствует существенному уменьшению сроков очистки почв и грунтов.

Однако высокие дозы хелатообразующих агентов могут быть токсичны для растений, в частности, в последствии, а повышенная растворимость металлов в почве нежелательна при высоком уровне грунтовых вод и частых дождях. Исходя из этого, для разработки технологий применения хелатообразующих агентов в разных почвенно-климатических условиях требуются дальнейшие исследования, учитывающие подбор наиболее эффективных хелатообразующих агентов, их доз, сроков и способов внесения, а также поиск быстрорастущих устойчивых растений-гипераккумуляторов тяжелых металлов, образующих большую биомассу в условиях индуцированной фитозэкстракции.

Библиографический список

1. Автксович П.Е. Индуцированная фито экстракция почвенного кадмия. Монография. М.: МГУП, 2003.
2. Авцын А.П. и др. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. АМН СССР. М.: Медицина, 1991.
3. Галиулин Р.В. и др. Влияние эфффекторов фито экстракции на ферментативную активность почвы, загрязненной тяжелыми металлами // Агрехимия, 1998. №7. С. 77-86.
4. Каплин В.Г. Основы экотоксикологии. Учебник для вузов. М.: КолосС, 2007.
5. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. М.: Дрофа, 2010.
6. Bradli H.B. Heavy metals in the enviromnent: origin metrication and remediation. Elsevier Academic Press, 2005.
7. Drutteikiene R. Influence of soil factors on the vertical profile of plutonium physic chemical forms. Vilnius: Ekologija, 2002. Vol. 2. P. 42-46.
8. Jarvis M. D. Chelated lead transport in Pinus radiata: an ultrastructural study // Environ. And experim. Botany, 2002. Vol. 48. P. 21-32.
9. Karczewska A. Acarryover effect of the chelating agents EDTA and EDDS applied to soils of the uptake of copper and iron by maize in the second year of a pot experimnt // J. Elemental, 2009. 14(4). P. 693-703.
10. Komarek M. The role of Fe- and Mn- oxides during EDTA-enhanced phytoextraction of heavy metals // Plant Soil Environ, 2007. Vol. 5. P. 216-224.
11. lasat M.M. Phytoextraction of toxic metals — a review of biological mechanisms // Journal of Environmental Quality, 2002. Vol. 31. P. 109-120.
12. Wallace A. Shift in the threshold toxicity levels in plants when more than one trace metal contaminates simulate // Total Enviromnent, 1983. P. 57-268.
13. WHO Health and enviromnent in sustainable development. Geneva: WHO.

Рецензент — д. б. н. Н.Ф. Ганжара

SUMMARY

Both cadmium and lead have a toxic effect on plants of maize (*Zea mays* L.), which is indicative of chlorophylls content decrease, a and b, and carotene in them. Due to high toxicity of heavy metals for plants, it is necessary to work out methods of both cleaning and remediation of contaminated soils and grounds. High efficiency of chelating agent EDTA, applied in big doses, to increase Pb and Cd phytoextraction intensity, has been discovered.

Key words, phytoremediation, phytoextraction, lead, cadmium, EDTA, maize.

М.А.-Х. Аль Аруд — д. б. н., профессор. Университет Альфурат, г. Дейр Эззор, Сирия.
Автухович Ирина Евгеньевна — д. с.-х. н. Тел. (499) 976-08-15.
Эл. почта: i_aft(@,mail.ru.