

УДК 632.122.2:581.52:631.46(470.21)

## **ПОДБОР РАСТЕНИЙ ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЯНЫМИ УГЛЕВОДОРОДАМИ**

© 2011 Н.А. Киреева<sup>1</sup>, А.С. Григориади<sup>1</sup>, В.В. Водопьянов<sup>2</sup>, А.Р. Амирова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Уфа

<sup>2</sup>ГОУ ВПО «Уфимский государственный авиационный технический университет», г. Уфа

Поступила 24.06.2011

Показана возможность использования растений *Tagetes erecta*, *Archangelica officinalis* и *Bromopsis inermis* в качестве фитомелиорантов нефтезагрязненных почв. Показана устойчивость фотосинтетического аппарата растений к воздействию нефти. В работе представлены данные по исследованию микробного сообщества прикорневой зоны растений и активность некоторых почвенных окислительно-восстановительных ферментов рекультивируемой почвы.

**Ключевые слова:** фиторемедиация, биологическая активность почвы, разложение нефтяных углеводородов, математическая модель.

В настоящее время среди веществ-загрязнителей нефтяные углеводороды признаны приоритетными поллютантами окружающей среды. Несмотря на предупредительные меры, при добыче, транспортировке и при аварийных разливах происходит загрязнение довольно больших площадей земли. Для решения проблемы восстановления нарушенных экосистем разрабатываются различные приемы рекультивации, включающие механические, физико-химические и биологические способы очистки почвы. Среди перечисленного наибольшую актуальность приобретают методы, основанные на использовании объединенного метаболического потенциала микроорганизмов и растений [1]. Фиторемедиация включает весь спектр метаболических процессов по поглощению, аккумуляции и разложению органических и неорганических загрязнителей. Соответственно, при отработке технологии фиторемедиации почв от нефтепродуктов основное внимание уделяется отбору растений, способных трансформировать совместно с симбиотическими микроорганизмами токсичную часть загрязнений, переводя их в менее подвижную и активную форму.

Целью нашего исследования по разработке приемов фиторемедиации являлся подбор растений, которые эффективно могли бы использоваться для восстановления загрязненных почв, также проводились исследования по устойчивости потенциальных фиторемедиантов к воздействию нефти.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В работе представлены данные по изучению видов растений-однолетников (*Tagetes erecta*), двулетников (*Archangelica officinalis*) и многолетников (*Bromopsis inermis*) в условиях нефтяного стресса.

Киреева Наиля Ахняфовна, докт. биол. наук, проф., e-mail: vodop@yandex.ru; Григориади Анна Сергеевна, канд. биол. наук, e-mail: nysha111@yandex.ru; Водопьянов Владимир Васильевич, докт. техн. наук, проф., e-mail: vodop@yandex.ru; Амирова Алия Римовна,

e-mail: aliika2007@yandex.ru

Исследования проводились на образцах серой лесной почвы (гумус 4,54 %, рН<sub>водный</sub> – 6,1; N<sub>общ.</sub> – 2507 мг/кг), искусственно загрязненной нефтью в концентрациях 1, 3 и 6% масс. В качестве контроля использовали растения, произрастающие на незагрязненной почве. Учет численности ризосферных микроорганизмов проводили через 30 и 60 сут с момента загрязнения по общепринятой методике посева почвенной суспензии на соответствующие агаризованные питательные среды [2]. Влияние нефтяного загрязнения на растения оценивали по содержанию пигментов в листьях [3]. Спектральные характеристики экстрактов пигментов регистрировали на спектрофотометре UV 2401 Shimadzu. Каталазная активность почвы определялась газометрическим, а дегидрогеназная активность – спектрофотометрическим методом [4]. Статистическую обработку проводили с помощью пакета компьютерных программ Statistica V 6.0.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

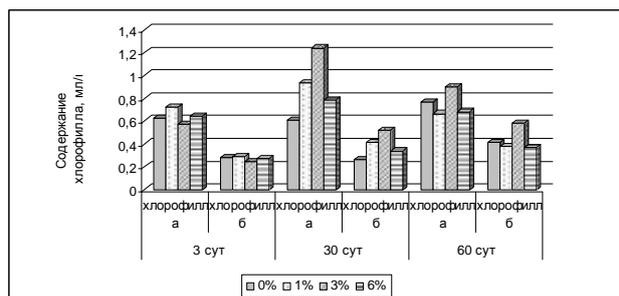
Очевидно, что поиск растений, толерантных к действию нефти, особенно с высоким содержанием серы, целесообразно проводить среди видов, корневая система которых устойчива к подтоплению. В связи с этим было проведено исследование влияния нефти на мезофильное растение дягиль лекарственный (*Archangelica officinalis* L.), широко встречающееся в северных и средних районах европейской части России. Этот представитель семейства зонтичных (*Umbelliferae*) адаптирован к усвоению аммонийного азота [5], легко переносит подтопление и неблагоприятное влияние закисных соединений железа и марганца [6], также была отмечена устойчивость его корневой системы к воздействию поллютантов [7].

Также проводилась оценка влияния нефтяного загрязнения на устойчивость бархатцев прямостоячих (*Tagetes erecta* L.). Интерес к этому растению обусловлен его способностью к произрастанию в антропогенно-загрязненных условиях городской среды. Бархатцы активно

используют для озеленения городов практически во всех географических зонах России. Помимо этого было доказана толерантность бархатцев к загрязнению тяжелыми металлами и способность к их аккумуляции [8].

Представителем многолетних растений в качестве фиторемедиантов был выбран кострец безостый (*Bromopsis inermis* Holub.) – корневищный верховой злак, характеризующийся мощной корневой системой. Отличается засухоустойчивостью, однако может выдерживать и затопление. Холодостоек. Полного развития достигает на 2-3-й год жизни. Весной трогается в рост рано, хорошо отрастает после скашивания и сжатия.

Одним из важных эколого-физиологических параметров оценки влияния нефтяного загрязнения на рост и развитие растений являются изменения в фотосинтетическом аппарате, в частности, содержание хлорофилла в листьях. Сравнение спектральных характеристик листьев всех исследованных видов растений, полученных из усредненных образцов, показало, что различия между интактными и экспериментальными растениями проявились на 30 сут эксперимента (рис. 1), причем в первую очередь изменились коротковолновые характеристики пигментов, в области 410-450 нм.



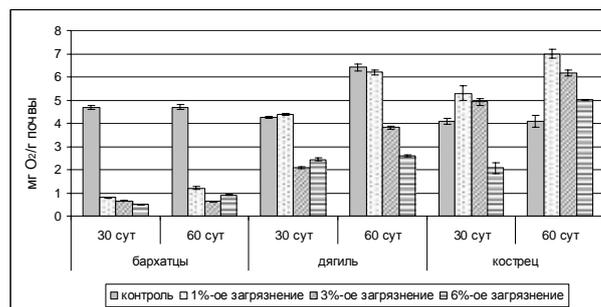
**Рис. 1.** Изменения содержания хлорофилла *a* и *б* в листьях *Archangelica officinalis* на 3, 30 и 60 сут после внесения нефти

Как известно, хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, служит своего рода детектором состояния клеток растений. Спустя 3 сут после начала эксперимента различия в содержании хлорофилла *a* и *б* в листьях дягиля практически не выражены. При внесении нефти в концентрации 1% отмечалось резкое увеличение содержания хлорофилла *a* в листьях растения. На наш взгляд стимулирующее влияние нефти в низких дозах на биосинтез хлорофилла вызвано непосредственным действием гидрофобной нефтяной пленки, выполняющей функцию антитранспиранта, и воздействием серы, содержащейся в нефти. Через 60 сут культивирования растений на нефтезагрязненной почве максимальное содержание хлорофиллов, как и спустя 30 сут, было отмечено при воздействии нефти в концентрации 3%, в первую очередь это коснулось хлорофилла *б*, более устойчивого к дей-

ствию стрессоров. Аналогичные данные были получены для образцов бархатцев и костреца.

Таким образом, максимальное содержание хлорофилла отмечено в варианте с внесением нефти в концентрации до 3% во все сроки экспериментов. Внесение нефти в дозах более 3-6% вызывало менее выраженную стимуляцию биосинтеза хлорофилла.

В результате проведенных исследований были получены данные по изменению активности окислительно-восстановительных ферментов в нефтезагрязненной почве при фиторемедиации на примере каталазы. На рис. 2 приведены данные по изменению активности каталазы в ходе эксперимента.



**Рис. 2.** Изменение активности каталазы в нефтезагрязненной почве под посевами растений-фиторемедиантов

Наибольшая активность каталазы под растениями дягиля отмечена при загрязнении почв в концентрации 1% через 30 сут с начала эксперимента, что, вероятно, связано с повышением уровня окислительно-восстановительных реакций биodeградации нефтяных углеводородов, идущих при непосредственном участии данного фермента [9]. В остальных вариантах опыта наблюдалось ингибирование активности фермента. Спустя 60 сут этот показатель возрастал, однако следует отметить, что рост активности фермента происходил и в почве контрольного варианта.

Наибольшая активность фермента под посевами костреца безостого отмечена при загрязнении почв в концентрации 1 и 3%. При более высоких концентрациях загрязнителя наблюдалось незначительное ингибирование каталазной активности под посевами фитомелиорантов.

Загрязнение почвы нефтью приводило к значительному снижению активности каталазы под посевами бархатцев пропорционально концентрации поллютанта на протяжении всего периода исследования. Однако через 60 сут негативное влияние начало снижаться, и значение показателя возросло для проб с концентрацией нефти 1 и 6%. Это может быть связано со снижением концентрации остаточных нефтепродуктов, которые ингибируют активность фермента.

Особый интерес среди биологических показателей представляет численность углеводородокисляющих

микроорганизмов (УОМ) ризосферы растений. Принцип фиторемедиации состоит в том, что разложение загрязняющих углеводородов производится не самим растением, а микроорганизмами, обитающими в непосредственной близости к его корням, т.е. в ризосфере. Растения влияют на численность, разнообразие и активность микроорганизмов за счет биологически активных корневых выделений [10, 11]. В ризосфере часто активно развиваются микроорганизмы, обладающие ферментами, необходимыми для деструкции поллютантов.

Анализ результатов исследований в лабораторных условиях показал, что посев фитомелиорантов в нефтезагрязненную почву способствовал увеличению численности УОМ. Например, через 60 сут эта величина составляла 74\*, 141\*, 170\*10<sup>3</sup> КОЕ/г почвы для 1, 3 и 6% загрязнения соответственно, что в 4 раза превышало значения показателей, полученных при анализе ризосферы растений, отобранных спустя 30 сут с момента загрязнения.

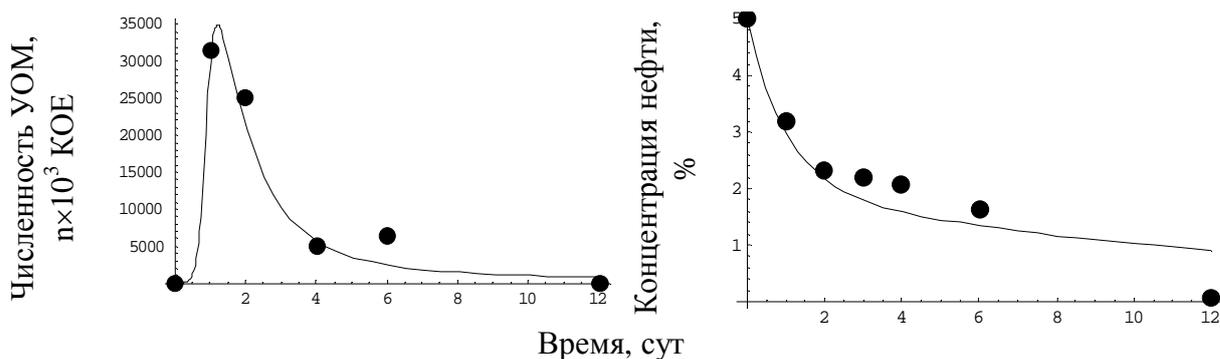
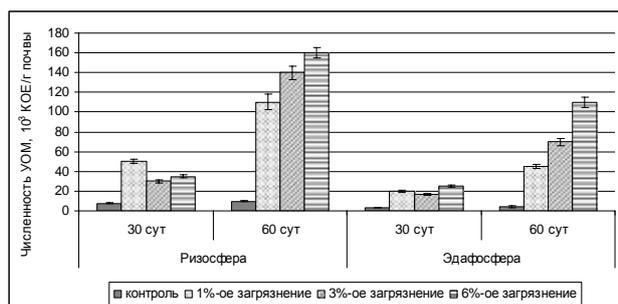
Также было показано, численность УОМ в ризосфере всех рассматриваемых растений была значительно выше, чем в почве, свободной от корней, что может служить доказательством интенсификации растениями протекания микробиологических

процессов и их непосредственное влияние на разложение нефтяных углеводородов (рис. 3).

В целом, на протяжении всего периода исследований, численность УОМ под растениями коостреца и дягиля была выше, чем под бархатцами.

**Рис. 3.** Динамика численности УОМ на примере *Tagetes erecta*, произрастающих на нефтезагрязненной почве

Нами была предложена новая математическая модель, описывающая поведение УОМ и процессов деградации углеводородов. Была рассмотрена точечная модель с учетом таких параметров, как плотности питательных веществ, выделяемых растениями в ризосфере и разложение за счет поглощения прикорневой системой. Модель хорошо описывала динамику разложения нефти в течение 180 сут эксперимента, где за начальную точку принято время появления всходов растения (рис. 4), а также адекватно описывала динамику изменения численности микроорганизмов в природно-технической системе почвы и процессы биodeградации нефти.



**Рис. 4.** Динамика изменения численности УОМ и биodeградации нефти в ризосфере растений при 5% загрязнении

Главным показателем с точки зрения очистки загрязненной почвы, является содержание остаточных нефтепродуктов под посевами растений.

Выращивание фитомелиорантов на почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, способствовало интенсификации процессов снижения содержания остаточных углеводородов (рис. 5).

Отмечено, что между периодами отбора проб под посевом коостреца и бархатцев скорость разложения нефтяных углеводородов составила 23% для

почв, загрязненных нефтью в концентрации 6%, а под посевами дягиля – 10%.

Максимальное снижение остаточных углеводородов происходило примерно под посевам коостреца при минимальном загрязнении.

При среднем уровне загрязнения разница между фиторемедиантами не отмечалась, при максимальном содержании поллютанта в почве наибольшей эффективностью характеризовались бархатцы прямостоячие.

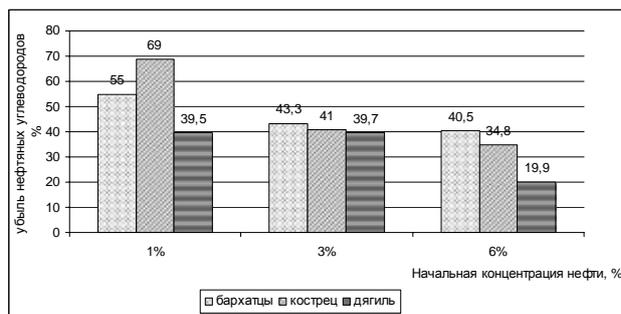


Рис. 5. Степень деградации нефтяных углеводородов в почве под посевами растений-фиторемедиантов.

Таким образом, фотосинтетический аппарат рассмотренных растений проявили устойчивость к воздействию нефтяных углеводородов. Под посевами фиторемедиантов уменьшалось содержание остаточной нефти, увеличивалась численность УОМ, восстанавливалась ферментативная активность почвы. Полученные данные свидетельствуют о том, что все растения могут применяться для восстановления нефтезагрязненной почвы, однако коострец безостый и бархатцы прямостоячие являются более перспективными растениями для проведения фиторемедиации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Турковская О.В., Муратова А.Ю. Биодegradация органических поллютантов в корневой зоне растений // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциированных

микроорганизмов с растениями. М.: Наука, 2005. С. 180-208.

2. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд. МГУ, 1991. 304 с.  
 3. Jeffre, S.W., Humphrey G.R. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanzen. Bd. 1975. V. 167. P. 191-194.  
 4. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.  
 5. Menghini A., Pocceschi N., Venanzi G., Milletti G. Accrescimento e differenziazione biometrica di piante di *Angelica archangelica* L. incoltura idroponica // Ann. Fac. Agr. Univ. Perugia. 1988. V. 42. P. 755-760.  
 6. Раменский Л.Г., Цаценкин И.А., Чижииков О.Н., Антипин Н.А. Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову. М.: Сельхозгиз, 1956. 470 с.  
 7. Баширова Р.М., Григориади А.С., Киреева Н.А. и др. Влияние загрязнения почвы нефтью на некоторые физиологические показатели дягилия лекарственного *Archangelica officinalis* // Аграрная Россия. 2009. № 2. С. 42-44.  
 8. Malarkodi M., Krishnasamy R., Chitdeshwari T. Phytoextraction of Nickel Contaminated Soil Using Castor Phytoextractor // J. Plant Nutrition. 2008. V. 31. № 2. P. 219-229.  
 9. Хазиев Ф.Х., Тишкина Е.И., Киреева Н.А., Кузьяхметов Г.Г. Влияние нефтяного загрязнения на некоторые компоненты агроэкосистемы // Агрохимия. 1988. № 2. С. 56-61.  
 10. Jones R., Sun W., Tang C.S., Robert F.M. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons in tropical coastal soils. II. Microbial response to plant roots and contaminant // Environ. Sci. Pollut. Res. 2004. V. 11. P. 340-346.  
 11. Kirk J., Klironomos J., Lee H., Trevors J.T. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil // Environ. Pollut. 2005. V. 133. P. 455-465.

### SELECTION OF PLANTS FOR PHYTOREMEDIATION OF SOIL CONTAMINATED BY PETROLEUM HYDROCARBONS

© 2011 N.A. Kireeva<sup>1</sup>, A.S. Grigoriadi<sup>1</sup>, V.V. Vodopyanov<sup>2</sup>, A.R. Amirova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State University, Ufa

<sup>2</sup>Ufa State Aviation Technical University, Ufa

It was shown the possibility of using plant *Tagetes erecta*, *Archangelica officinalis* and *Bromopsis inermis* as a land-improving plant oil-contaminated soils. It has been shown stability of the photosynthetic apparatus of plants to oil contamination. The paper presents data on the study of microbial community root zone of plants and soil activity of some redox enzymes soil during remediation.

**Key words:** phytoremediation, the biological activity of soil, the decomposition of petroleum hydrocarbons, the mathematical model.

Kireeva Nailya Ahnyafovna, Doctor of Biology, Professor, e-mail: vodop@yandex.ru; Grigoriadi Anna Sergeevna, Candidate of Biology, e-mail:nyshal11@yandex.ru; Vodopyanov Vladimir Vasilievich, Doctor of Techniques, Professor, e-mail: vodop@yandex.ru; Amirova Aliya Rimovna, e-mail: aliika2007@yandex.ru