

УДК 581.13.:504.054

ИНДУЦИРОВАННАЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПЕСТИЦИДАМИ ПОЧВ С ПОМОЩЬЮ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСАНА

©2013 С.Н. Калугин¹, А.А. Нуржанова², Р.А. Байжуманова¹, А.А. Митрофанова¹, Ж.Е. Жумашева²

¹Научный институт новых химических технологий и материалов Казахского национального университета им. аль-Фараби, г. Алматы

²Институт биологии и биотехнологии растений Национального центра биотехнологии Республики Казахстан, г. Алматы

Поступила 05.06.2013

В работе представлены результаты влияния синтезированных ростстимулирующих веществ из продуктов глубокой переработки углеводородного сырья на миграционные свойства метаболита 4,4-ДДТ и 4,4-ДДЕ к системе «почва-растение». Установлено, что внесение в загрязненную почву биостимулятора роста растительного организма повышает эффективность процесса фитоэкстракции пестицидов. Выявлена оптимальная концентрация применения производных оксана, в качестве стимулятора роста.

Ключевые слова: фиторемедиация, фитоэкстракция, пестициды, производные оксана, растение.

Фиторемедиация – это технология восстановления загрязненной среды с использованием различных видов растений [1-4]. Фиторемедиационная технология применяется непосредственно в районе загрязнения (*in situ*), способствует снижению затрат и уменьшению контакта загрязнённого ксенобиотика с людьми и окружающей средой. Самое главное, после фиторемедиации почва не теряет своего плодородия. Следовательно, эта технология является экологически безопасной и экономически выгодной.

Один из ключевых моментов фиторемедиации – оптимальный состав толерантных видов растений, способных не только выжить в условиях загрязнений, но трансформировать и обезвредить их. Выбор растений для этой технологии определяется их способностью выносить на поверхность почвенные воды за счет эвапотранспирации, расщеплять загрязняющие соединения при помощи своих ферментов и накапливать эти соединения в биомассе. Растительную массу не составляет особого труда собрать и сжечь, а образовавшийся пепел захоронить [5].

Важнейшими компонентами технологии восстановления загрязненной хлорорганическими пестицидами почвы при помощи растений являются фитоэкстракция и фитостабилизация. Фитоэкстракционный потенциал растительного организма зависит от гидрофобности загрязнителя. Степень гидрофобности ($\log K_{ow}$) во многом предопределяет эффективность поглощения и передвижения загрязнителя в растениях. К токсикантам, у которых $\log K_{ow}$ варьирует в пределах от 3,5 до 8,3, относят-

ся стойкие органические пестициды, такие как ДДТ и ГХЦГ. В почве они связываются с органическими или неорганическими соединениями (хелатируют), становятся изолированными в пределах естественных твердых частиц почвы, что снижает биодоступность флоре [6].

Для повышения эффективности фиторемедиации предлагается применять вещества, стимулирующие рост растений, повышающие подвижность гидрофобных загрязнителей и увеличивающие скорость их поступления в растения. В связи с этим были синтезированы гетероциклические соединения оксанового ряда - 2,4-динитрофенилгидразон (БКМ) и семикарбазон 2,2-диметилксан-4-она (СК), потенциально обладающие биологической активностью [7].

В настоящей статье особый акцент уделяли миграционной способности метаболитов р,р'-дихлордифенилтрихлорэтана (4'4 ДДТ и 4'4ДДЕ) в системе «почва-растение». Хотя эти хлорорганические пестициды представляют собой только часть устаревших пестицидов, они важны из-за их статуса, так как они отнесены согласно Стокгольмской конвенции к стойким органическим загрязнителям и представляют собой серьезную проблему для экологии и для здоровья человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Синтез гетероциклических соединений (СК и БКМ) был осуществлен взаимодействием семикарбазида и 2,4-динитрофенилгидразина с 2,2-диметилтетрагидропиран-4-оном, полученным аллен-ацетиленовой перегруппировкой диметилвинилэтилкарбинола в 10%-ной серной кислоте в присутствии каталитических количеств сульфата ртути (рис. 1) [8].

С помощью биотестов (всхожесть семян, длина и биомасса подземной и надземной части 4-дневных проростков ячменя сорта Сауле) была установлена оптимальная концентрация гетероциклических соединений, обладающая ростстимули-

Калугин Сергей Николаевич, д.х.н., доц., директор, e-mail: kalugin_sn_org@mail.ru; Нуржанова Асиль Аруновна, д.б.н., доц., главный научный сотрудник, e-mail: gen_asil@mail.ru; Байжуманова Роза Алтысовна, магистр, младший научный сотрудник, e-mail: roza_111_90@mail.ru; Жумашева Жадыра, магистр, научный сотрудник, gen_asil@mail.ru; Митрофанова Анастасия Александровна, магистр, лаборант, e-mail: mytrofanova_18@mail.ru

рующей активностью. Для этого семена ячменя обрабатывали СК и БКМ в концентрации 0,01, 0,001 и 0,0001%. Контролем служила дистиллированная вода.

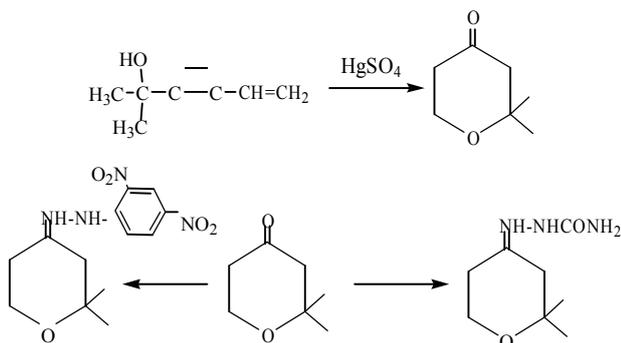


Рис. 1. Схема синтеза 2,4-динитрофенилгидразона и 2,2-диметилгексан-4-он (по [8])

Для изучения ремедиационной способности вокруг территории недействующего хранилища пестицидов, расположенного в пос. Кызыл-Кайрат Талгарского р-на Алматинской обл. была проведена посадка семян ремедиантов: *Xanthium strumarium* L. (дурнишник обыкновенный), *Ambrosia artemisiifolia* (амброзия полынолистная) и *Helianthus annuus* (подсолнечник). Общая площадь – 100 кв.м. В период всхода растительные организмы обрабатывали растворами СК и БКМ в

концентрации 0,0001%. В качестве контроля использовали загрязненные участки без растений и загрязненные участки с внесением СК или БКМ.

В процессе онтогенеза изучали рост и развитие растений: учитывали высоту растений через каждые 10 дней, фенологические фазы развития, а в период отбора проб (стадия цветения) учитывали массу надземной и корневой части, длину корневой системы и высоту надземной части.

Отбор образцов и определение содержания пестицидов в почве до и после эксперимента, в золе и в вегетативных органах растений определяли с помощью стандартных методов, применяемых в Казахстане на хроматографе цвет с использованием капиллярной колонки HP-5 и электронно-захватного детектора [9, 10].

Все экспериментальные данные статистически обрабатывали общепринятыми методами [11] построение графиков, диаграмм проводили после обработки данных с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что синтезированные соединения СК и БКМ обладают способностью увеличивать всхожесть, рост и биомассу растительного организма относительно контроля (табл. 1).

Таблица 1. Влияние ростстимулирующих веществ на ростовые показатели семян ячменя сорта Сауле

Вариант опыта	Концентрация, %	Длина надземной части, см	Длина подземной части, см	Масса надземной части, г	Масса подземной части, г
Контроль		4,82±0,07	6,60±0,20	0,062±0,001	0,062±0,001
СК	0,01	5,12±0,11**	6,91±0,40	0,094±0,001**	0,060±0,001
	0,001	5,84±0,23***	7,42±0,39*	0,102±0,001**	0,063±0,002*
	0,0001	6,10±0,06***	8,24±0,49***	0,117±0,001***	0,068±0,001**
БКМ	0,01	5,31±0,20**	6,9±1,02	0,022±0,001	0,036±0,001
	0,001	5,53±0,30**	7,7±0,86*	0,038±0,001	0,053±0,001
	0,0001	5,82±0,10**	8,8±0,64**	0,072±0,001*	0,069±0,001***
Фурацилин	0,01	Низкая всхожесть, в процессе онтогенеза погибли			
	0,001	3,13±0,02*	2,53±0,59*	0,030±0,001*	0,013±0,001*
	0,0001	5,01±0,09	6,42±0,01	0,040±0,001	0,044±0,001

Прим.: * при $P < 0,05$, ** при $P < 0,01$, *** при $P < 0,001$ разность достоверна при 99% уровне вероятности относительно контроля

Выявлено, что СК и БКМ в низкой концентрации (0,0001%) способны повышать всхожесть семян ячменя на 12 и 10% соответственно, а БКМ-1, наоборот, ингибировал всхожесть до 68% относительно контроля.

Ростстимулирующие вещества повышают ростовые показатели (биомассу, длину надземной части и корневой системы). При этом повышение ростовых показателей зависит от концентрации веществ. Например, масса надземных органов ячменя при концентрации 0,0001% повышалась относительно контроля в 2 раза (опыт - 0,1176 ± 0,001 г, контроль - 0,0626 ± 0,001 г, при $P < 0,001$), а кор-

невая система в 1,1 раз (опыт - 0,0684 ± 0,001 г, контроль - 0,0620 ± 0,001 г при $P < 0,01$). Аналогичные данные были получены для БКМ в концентрации 0,0001%. Статистически значимое ингибирование роста растений, выражающееся в снижении накопления биомассы, как надземной части, так и корневой системы и ростовых показателей относительно контроля характерно для фурацилина. Ростовые показатели при концентрации 0,0001% фурацилина были на уровне контроля.

Эффективность фиторемедиации почв зависит от продуктивности растений. С большей биомассой из почвы удаляется большее количество поллютан-

тов, поступивших в растительный организм. В ряде исследований [12, 13] показана прямая зависимость продуктивности растений от их фотосинтетической активности, т.е. эффективность работы фотосинтетического аппарата растений является одним из важнейших показателей, определяющих эффективность фиторемедиации.

Остаточное количество метаболитов 4.4'-ДДТ и 4.4'-ДДЭ в почве вокруг склада было на уровне $1425,6 \pm 241,2$ мкг/кг.

Установлено, что при внесении в загрязненную почву СК и БКМ сроки наступления фенологических фаз по сравнению с растениями, произрастающие на загрязненной пестицидами почве удлинялись до 6 дней. Дикорастущие виды реагировали на действие СК и БКМ за счет незначительного повышения длины корневой системы и биомассы надземной части. Например, высота *X. strumarium* в зависимости от условий среды варьировала от $96,00 \pm 0,14$ см до $97,50 \pm 0,87$ см, длина корневой системы от $23,00 \pm 0,19$ см до $29,50 \pm 0,07$ см, общая биомасса от $180,50 \pm 2,11$ г до $187,5 \pm 5,03$ г. Период от посева до периода цветения – 45-60 дней. Техническая культура *H. annuus* реагировала на действие ростостимулятора. При внесении СК высота растительного организма повышалась на 27%, биомасса надземной части на 80%, а масса корневой системы на 44%. При внесении БКМ высота растительного организма увеличилось на 22%, биомасса надземной части – на 106%, а масса корневой системы – на 38%. Период от посева до периода цветения – 63-78 дней.

Анализ остаточного количества метаболитов ДДТ в вегетативных органах растений в период цветения подтвердил, что изученные виды обладают высокой аккумуляционной способностью. Концентрации метаболитов 4.4'-ДДТ и 4.4'-ДДЭ в вегетативных органах растений превышали ПДК до 63 раз при ПДК для растений 20 мкг/кг. Так, содержание пестицидов в вегетативных органах технического вида *H. annuus* составило 950 ± 148 $\mu\text{g kg}^{-1}$, дикорастущего вида *X. strumarium* – 464 ± 45 $\mu\text{g kg}^{-1}$ и *A. artemisifolia* – 1264 ± 148 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Внесение в загрязненную почву производных оксана в концентрации 0,0001% в период всходов повышает фитоэкстракционный потенциал (табл. 2).

При внесении СК в концентрации 0,0001% остаточное количество пестицидов увеличилось только в вегетативных органах *X. strumarium* до 1051 ± 123 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (от 23 до 51 ПДК) и *A. artemisifolia* – до 1482 ± 189 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (от 63 до 75 ПДК). При внесении БКМ в концентрации 0,0001% значительное увеличение концентрации пестицидов наблюдали только в вегетативных органах *H. annuus* ($1121,0 \pm 156,2$ $\mu\text{g kg}^{-1}$). Содержание пестицидов в вегетативных органах растений является количественным показателем. В связи с этим, с учетом биомассы и концентрации пестицидов в вегетативных органах, подсчитали, сколько пестицидов может быть экстрагировано из

загрязненной почвы за вегетационный период (от начало всходов до стадии цветения). За счет повышения биомассы за вегетационный период одно растение *H. annuus* экстрагировало с загрязненной почвы в зависимости от условий среды и биомассы от 105,25 до 153,3 μg пестицидов, *X. strumarium* – от 22,1 до 80,0 μg и *A. artemisifolia* – от 30,6 до 101,1 μg . Исходя из этих данных, можно предположить, что накопительная способность растений является регулируемым процессом: увеличение растительной биомассы повышает накопление пестицидов в вегетативных органах растительного организма.

Для оценки степени извлечения загрязнителей из почвы растениями использовали коэффициент биологического поглощения, показывающий долю поллютанта, перешедшего из загрязненной почвы в растение за вегетационный период [14].

При разработке технологии фиторемедиации почв первостепенной задачей является поиск растений способных аккумулировать загрязнители среды в корневой системе, а затем транслоцировать их в надземную часть, т.е. растения с высоким коэффициентом траслокации. Значения коэффициента ближе к единице и выше показывают способность растений транслоцировать загрязнители в надземные органы.

Основным органом накопления пестицидов у изученных видов была корневая система. Однако при дополнительном внесении в загрязненную почву СК или БКМ увеличилась миграция пестицидов в системе «почва–корень–побеги». К примеру, коэффициент транслокации *X. strumarium* повысилось от 0,31 до 0,8 в присутствии БКМ, а в присутствии СК – от 0,3 до 0,7. Коэффициент транслокации *H. annuus* повысился от 0,13 до 1,1 в присутствии БКМ, в присутствии СК от 0,3 до 0,4, *A. artemisifolia* – от 0,2 до 0,3 и от 0,2 до 0,3 соответственно.

Анализ экспериментальных и расчетных данных показывает, что в присутствии в загрязненной почве синтезированных веществ повышается степень извлечения пестицидов всеми исследуемыми растениями. Коэффициент биологического поглощения у *A. artemisifolia* в зависимости от условий среды варьировал от 1,3 до 2,0; *H. annuus* – от 1,1 до 2,3; *X. strumarium* – от 0,4 до 1,3 (рис. 2). Это может быть связано как с анатомо-морфологическими особенностями, так и с физиолого-биохимическими свойствами, зависящими от индивидуальных особенностей метаболизма, скорости протекания биохимических реакций, направленных на связывание токсикантов, например, с белками цитоплазмы.

Процесс миграции хлорорганических пестицидов из корневой системы в надземную часть зависит от их гидрофобности. Например, значения $\log K_{ow}$ для 4,4-ДДТ равен 5,5, а для 4,4-ДДЕ - 6,9. Метаболит 4,4-ДДТ менее гидрофобен, чем 4,4-ДДЕ, поэтому метаболит 4,4 - ДДЕ менее адсорбируется в надземную часть растительного организма, чем 4,4-ДДТ [15].

Таблица 2. Фитоэкстракционный потенциал растений, произрастающих на загрязненной почве в присутствии регуляторов роста (вокруг территории недействующего хранилища пестицидов, пос. Кызыл-Кайрат Талгарского р-на Алматинской обл.)

Варианты опыта	Вегетативные органы	Остаточное кол-во пестицидов, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Масса почвы/растение, кг	Фитоэкстракция, μg
<i>H. annuus</i>				
Загряз. почва	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	531,00	0,188	99,8
	Подземная часть	419,35	0,0195	5,45
Загряз. почва + СК	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	338,00	0,340	114,9
	Подземная часть	603,50	0,028	16,89
Загряз. почва + БКМ	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	341,00	0,388	132,3
	Подземная часть	780,00	0,027	21,06
<i>X. strumarium</i>				
Загряз. почва	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	108,75	0,150	16,3
	Подземная часть	355,80	0,015	5,30
Загряз. почва + СК	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	409,00	0,171	69,9
	Подземная часть	612,00	0,017	10,10
Загряз. почва + БКМ	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	302,00	0,170	51,3
	Подземная часть	343,00	0,015	5,15
<i>A. artemisifolia</i>				
Загряз. почва	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	269,50	0,0695	18,7
	Подземная часть	995,00	0,012	11,9
Загряз. почва + СК	Почва	1425,58	200	285116
	Надземная часть	363,50	0,0710	25,8
	Подземная часть	1119,00	0,013	14,5
Загряз. почва + БКМ	Почва	738,80	200	147760
	Надземная часть	1425,58	0,0695	99,0
	Подземная часть	311,80	0,007	2,1

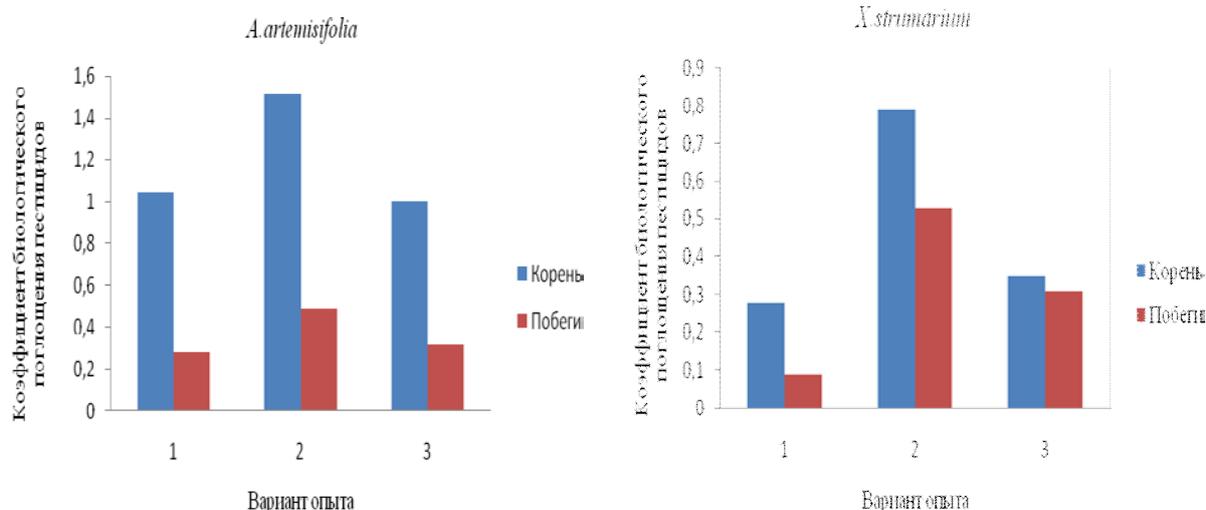


Рис. 2. Коэффициент биологического поглощения пестицидов растениями, выращенными на загрязненной почве при внесении СК и БКМ в концентрации 0,0001%.

Прим.: 1 – загрязненная почва, 2 – загрязненная почва + СК, 3 – загрязненная почва + БКМ

В наших исследованиях подтверждено, что растения аккумулируют в вегетативных органах больше метаболита 4,4-ДДТ, чем метаболита 4,4-ДДЕ. Замечено, что в присутствии ростстимулирующих веществ усиливается процесс миграции метаболита 4,4-ДДЕ из почвы в корневую систему, а из корневой системы в надземную часть. Так, для СК остаточное количество 4,4-ДДЕ у вида *X. strumarium* увеличилось в надземной части от 102 до 280 $\mu\text{g kg}^{-1}$, в корневой системе от 159 до 337 $\mu\text{g kg}^{-1}$ соответственно. Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что для усиления биодоступности хлорорганических пестицидов в системе «почва–растение» необходимо подбирать благоприятные условия среды [16–21].

Таким образом, синтезированные производные оксана помимо повышения фитомассы увеличивают миграционную способность метаболитов ДДТ в системе «почва–корневая система–надземная часть».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Cunningham S.D., Ow D.W.* Promises and Prospects of Phytoremediation // *Plant Physiol.* 1996. V. 110. P. 55-114.
2. *Прасад М.Н.* Практическое использование растений для восстановления экосистем, загрязненных металлами // *Физиология растений.* 2003. Т. 50. № 5. С. 764-780.
3. *Pilon-Smits E.* Phytoremediation // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2005. V. 56. P. 25-35.
4. *Dowling D., Doty S.* Improving phytoremediation through biotechnology // *J. Curr. Opinion in Biotechnology.* 2009. V. 20. P. 204-206.
5. *Гончарова Н.В.* Фиторемедиация новая стратегия использования растений для очистки почвенного покрова // *Экол. вестник: научно-практ. журнал.* 2010. № 4 (14). С. 5-14.
6. *Alexander M.* Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants // *Environ. Science Techn.* 2000. V. 34. P. 4259-4265.
7. *Митрофанова А.А., Байжуманова Р.А., Бажсаканова С.И. и др.* Новые гетероциклические стимуляторы роста растений для фиторемедиационной технологии очистки земли от

- стойких органических загрязнителей // *Междунар. научн. конф. студентов и молодых ученых "МИР НАУКИ"*, приуроченная к 20-летию Государственных символов РК. КазНУ, 2012. С. 10-11.
8. *Назаров И.Н.* Избранные труды. М.: АН СССР, 1961. 250 с.
9. Унифицированные правила отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов от 13.08.97. Алматы: Мин-во сельского хозяйства РК. 1997. 18 с.
10. Методические указания по отбору проб сельскохозяйственной продукции и почвы для определения микроколичеств пестицидов и изучения их влияния на биохимические показатели урожая при проведении регистрационных испытаний препаратов. Алматы-Акмола: Мин-во сельского хозяйства РК, 1997. 22 с.
11. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. М.: Колос, 1973. 327 с.
12. *Вознесенский В.С., Зеленский О.В., Семихатова О.А.* Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений. Л.: Наука, 1965. 350 с.
13. *Sachs I.* Ein Beitrag zur Kenntniss der Ernährungstätigkeit der Blätter. Arb. Bot. Inst., Würzburg, 1884. 450 с.
14. *Барсукова В.С.* Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам: Аналит. обзор. Новосибирск: СО РАН, 1997.
15. *Pascal-Lorber S., Laurent F.* Phytoremediation Techniques for Pesticide Contaminations // *Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation, Sustainable Agriculture Reviews 6.* E. Lichtfouse (ed.). Springer Science + Business Media, 2011. P. 77-105.
16. *Karhikeyan R., Davis L.C., Erickson L.E. et al.* Potential of plant-based remediation of pesticide contaminated soil and water using non-target plants such as trees, shrubs and grasses // *Critical Reviews in Plant Sciences.* 2004. V. 23. N 1. P. 1-11.
17. *Kamanavalli C.M., Nimkekar H.Z.* Biodegradation of DDT by a *Pseudomonas* species. // *Curr Microbiol.* 2004. V. 48. P. 10-13.
18. *Phillips T., Seech A., Lee H. Trevors J.* Biodegradation of hexachlorohexane (HCH) by microorganisms // *Biodegradation.* 2005. V. 16. P. 363-392.
19. *Huang Y., Zhao X., Luan S.* Uptake and biodegradation of DDT by 4 ectomycorrhizal fungi // *Sci Total Environ.* 2007. V. 385. P. 235-241.
20. *Raina V., Suar M., Singh A. et al.* Enhanced biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) in contaminated soils via inoculation with *Sphingobium indicum* B90A // *Biodegradation.* 2008. V. 19. P. 27-40.

INDUCED PHYTOREMEDIATION PESTICIDES SOIL USING DERIVATIVES OF OKSAN

©2013 S.N. Kalugin¹, A.A. Nurzhanova², R.A. Bayzhumanova¹, A.A. Mitrofanova¹, Zh. Zhumasheva²

¹Kazakh National University of Al-Farabi, Almaty

²Institute of Plant Biology and Biotechnology, Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Almaty

The paper presents the results of the effect of the synthesized growth-stimulating substances from products of deep processing of hydrocarbon raw materials on migratory properties of DDT metabolite 4,4- and 4,4-DDE to the «soil-plant». It is established that the introduction of the contaminated soil bio-stimulator of growth of the plant organism increases the efficiency of phytoextraction of pesticides. As a result, the optimum concentration of the use of derivatives Oksana, as a growth stimulator.

Keywords: phytoremediation, phytoextraction, pesticides, derivatives of oksan, plant.

Sergey Kalugin, Doctor of Chemistry, associate professor, director, e-mail: kalugin_sn_org@mail.ru; *Aseel Nurzhanova*, Doctor of Biology, associate professor, main researcher, e-mail: gen_asil@mail.ru; *Rosa Baijumanova*, master, junior researcher, e-mail: roza_111_90@mail.ru; *Zhumasheva*, master, researcher, e-mail: gen_asil@mail.ru; *Zhadyra* ru; *Anastasia Mitrofanova*, master, laboratory assistant, e-mail: mytrofanova_18@mail.ru