

УДК 504

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ АЛЛЮВИАЛЬНО-ЛУГОВОЙ ПОЧВЫ ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПХБ С ПОМОЩЬЮ ФИТОМЕЛИОРАНТОВ

© 2016 С.М. Севостьянов, Д.Ю. Аладин, Н.Ф. Деева, Д.В. Демин

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино

Статья поступила в редакцию 22.05.2016

В результате процессов протекающие при взаимодействии растений *Medicago sativa* (люцерна посевной) и *Agrostis tenuis* (полевицы тонкой) и загрязненной полихлорированными бифенилами (ПХБ) аллювиально-луговой почвы наблюдается снижение концентрации поллютанта на 45-50%. Помимо снижения уровня загрязнения, происходит изменение конгенерного состава ПХБ в почве.

Ключевые слова: почва, ксенобиотик, полихлорированные бифенилы (ПХБ), фиторемедиация, корневые экссудаты, растения-фитомелиоранты

Антропогенные нагрузки на экосистемы приводят к повышенному накоплению ксенобиотиков в отдельных их составляющих, в частности, в почвах и растениях. Поступление токсикантов в растения связано со способностью корней или листьев поглощать их из окружающей среды. Полихлорированные бифенилы (ПХБ) относятся к наиболее опасным загрязняющим веществам, требующим постоянного контроля над их накоплением и трансформацией в почвах урбоэкосистем. Эти соединения обладают высокой устойчивостью в окружающей среде, способны к глобальному атмосферному переносу и накоплению по трофическим цепям. Поэтому разработка методов восстановления загрязненных почв весьма актуальна и востребована. Важнейшими задачами в аспекте охраны биосферы является:

- установление путей поступления, транспорта и превращения ксенобиотиков и их влияние на обмен веществ у растений;

- выяснение физиолого-биохимических основ устойчивости растений к токсическим веществам и выявления видов, способных поглощать и утилизировать такие вещества в сравнительно большом количестве;

- определение роли растений в круговороте почва - растения ксенобиотиков и продуктов их превращения.

Транспорт ксенобиотиков в растения связан, прежде всего, со способностью корней или листьев поглощать ксенобиотики из окружающей среды. Поглощение корнями ксенобиотиков из водных растворов происходит, как правило, в 2 фазы: первая фаза – это быстро протекающая диффузия в свободное пространство, заканчивающаяся за короткий период времени, вторая фаза – последующее медленное продолжительное накопление вещества, количество которого прямо пропорционально времени экспозиции. Процесс поглощения зависит от температуры, концентрации ксенобиотиков, pH питательного раствора, химического строения ксенобиотика. Интенсивность превращения ксенобиотика в клетке зависит от скорости

поступления его и места локализации, от ферментных систем химической природой ксенобиотика.

**Цель работы:** изучение процессов накопления ПХБ различными видами растений и их дальнейшей трансформации и деструкции с подбором культуры – фитомелиоранта для удаления их почв данного стойкого органического загрязнителя.

В силу своего взаимовыгодного существования растительно-микробные ассоциации и симбиозы имеют преимущества при выживании в неблагоприятных условиях окружающей среды. При этом их выживание обусловлено не только повышением толерантности к ксенобиотикам, но и активным удалением токсикантов из сферы обитания. В настоящее время это нашло практическое применение для восстановления загрязненных почв в виде технологий фиторемедиации, основанных на эффективности ризосферных процессов. Классы органических соединений, которые разлагаются в ризосфере быстрее, чем в свободной почве, включают нефтяные углеводороды, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), хлорированные пестициды и соединения типа полихлорированных бифенилов (ПХБ). Кроме аккумуляции и внутриклеточного метаболизма растения могут стимулировать деградацию загрязнителей через свою корневую систему *in situ*. Многие авторы считают, что в процессе фиторемедиации ризосферная деградация является преимущественным механизмом элиминации органических поллютантов из загрязненной почвы. Фиторазложение СОЗ не представляется реалистичным решением для уничтожения их запасов, но оно может быть приемлемой технологией доочистки для удаления остаточных количеств загрязнителей из почвы. Предварительные лабораторные исследования, проведенные нами и другими авторами, позволили установить, что происходит разложение ПХБ в почве при выращивании определенных видов растений [1-4].

**Объект и методы исследования.** Загрязнение почвенного покрова ПХБ характерно для отдельных территорий г. Серпухова Московской области. При этом уровни загрязнения могут достигать нескольких тысяч ПДК (ПДК для почв 0,06 мг/кг). На первых этапах работ для почв, загрязненных ПХБ, авторами применен метод деструкции их реагентом на основе натриевых солей аминокислот (NaL). Были подобраны дозы реагента, которые приводят к наиболее полной деградации ПХБ [5]. Полевой эксперимент с обработкой NaL нескольких гектаров загрязненных почв показал стойкий положительный эффект в течение нескольких лет. Однако ограниченный выпуск данного реагента не

Севостьянов Сергей Михайлович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией функциональной экологии. E-mail: Sevost2000@rambler.ru

Аладин Данила Юрьевич, научный сотрудник лаборатории функциональной экологии. E-mail: aladin-danila@rambler.ru

Деева Надежда Филипповна, старший научный сотрудник лаборатории функциональной экологии. E-mail: ndeeva@rambler.ru

Демин Дмитрий Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной экологии. E-mail: nimedd@yandex.ru

позволяет широко применять данный метод на больших территориях, поэтому в дальнейшем нами проведена серия экспериментов с растениями-фитомелиорантами.

В лабораторных экспериментах выявлено, что повышенные дозы ПХБ приводят к угнетению растений на разных стадиях их вегетации. Так, *Medicago sativa* (люцерна посевная) испытывает угнетение на начальных этапах развития растения, в дальнейшем наблюдается адаптация к повышенным концентрациям данного поллютанта. Для *Agrostis tenuis* (полевицы тонкой) отмечено стимулирующее действие ПХБ на начальном этапе вегетации и угнетение в дальнейшем. К концу эксперимента уровни загрязнения почвы снились от 30 до 70% по отдельным повторностям [1]. Полученные положительные результаты лабораторных экспериментов по фито- и ризодеградации ПХБ в загрязненных почвах, позволили заложить пилотный полевой эксперимент *in situ* на сильно загрязненной ПХБ аллювиально-луговой почве в г.Серпухове.

На загрязненной аллювиально-луговой почве выделены два квадрата размером 5x5 м. С данных площадей отобраны почвенные образцы из слоя 0-20 см для определения ПХБ. Растительный покров был удален. Участки были перекопаны вручную, при этом были выбраны корни. Затем осенью один из квадратов был засеян *Medicago sativa*, другой – *Agrostis tenuis*. Через год в конце сезона вегетации растений по стандартной методике были отобраны образцы почв и растений и проанализированы. Образцы аллювиально-луговой почвы отбирали на пробной площадке из слоя 0-20 см методом конверта. Пробы почв сразу помещали в стеклянные банки с притертыми пробками, заполнив их полностью до пробки. Растительные образцы разделяли на надземную зеленую массу и корни с удалением части почвы. Пробы доставляли в лабораторию и сразу анализировали. Определения содержания ПХБ проводилось методом газо-жидкостной хроматографии масс-спектрометрии низкого разрешения; а для определения планарных ПХБ – сочетание газо-жидкостной хроматографии масс-спектрометрии высокого разрешения.

**Результаты и обсуждения.** Результаты экспериментов с использованием растений на загрязненной почве показали, что для биодegradации ПХБ необходимо постоянное присутствие корней и их выделений.

Растения через свою корневую систему могут влиять на деградацию поллютанта напрямую или опосредованно, изменяя окружающую их почвенную среду. Прорастание почвы корнями помогает растениям, микроорганизмам, питательным веществам и поллютанту вступать во взаимодействия друг с другом. Растения также снабжают почву органическим веществом либо после своей гибели, либо при жизни за счет сливающихся клеток корней и выделения муцигеля – желеобразного вещества, которое выполняет роль смазки при продвижении корня в почве [6].

Известно, что состав и количество корневых экссудатов зависят от вида и стадии развития растения [7]. Кроме того, пространственно-временные факторы, включающие в себя тип почвы, уровень питательных веществ, pH, доступ влаги, температуру, концентрацию кислорода и диоксида углерода в атмосфере, интенсивность освещения, также оказывают значительное влияние на количество и состав корневых выделений [8]. Очевидно, что характер корневой экссудации растений также будет зависеть от присутствия в окружающей среде поллютанта. Таким образом, корневые выделения являются главным инструментом растения в его ризосфере, воздействующим на загрязняющее вещество как непосредственно, так и опосредованно. К непосредственному воздействию корневых выделений растения можно отнести солибилизацию, трансформацию и деградацию поллютанта под действием ферментов, выделяемых с экссудатами в ризосферу. Опосредованное участие корневых выделений растения в ризосферной деградации поллютанта заключается в стимулировании почвенных микроорганизмов-деструкторов. Биодegradация напрямую связана с биодоступностью загрязнителя, означающей его подверженность микробной деградации.

Корневые экссудаты растений могут увеличивать биодоступность загрязнителя, конкурируя с ним за сорбцию на частицах почвы. Например, авторы [9] наблюдали увеличение концентрации 5- и 6-кольцевых ПАУ в почве, которую обрабатывали искусственными корневыми экссудатами в различном сочетании с растворами нитрата аммония и дигидрофосфата натрия, в качестве дополнительных источников азота и фосфора. Полученный результат объяснялся десорбцией изначально неэкстрагируемых молекул загрязнителя под влиянием внесенных добавок.

**Таблица 1.** Содержания ПХБ в почве до и после выращивания растений

Конгенер ПХБ	Загрязненная почва до выращивания растений		Почва после выращивания <i>Agrostis tenuis</i>		почва после выращивания <i>Medicago sativa</i>	
	мкг/кг	%	мкг/кг	%	мкг/кг	%
трихлорбифенил	39,46	21,30	14,77	15,97	15,37	15,19
тетрахлорбифенил	68,75	37,11	28,11	30,39	30,34	29,99
пентахлорбифенил	35,68	19,26	27,86	30,12	31,21	30,85
гексахлорбифенил	34,86	18,82	15,57	16,84	17,59	17,39
гептахлорбифенил	5,45	2,94	5,00	5,41	5,40	5,34
октахлорбифенил	1,05	0,57	1,17	1,27	1,25	1,24
сумма	185,25	100	92,48	100	101,16	100

Анализ результатов эксперимента показал уменьшение общего содержания ПХБ в почве под *Medicago sativa* на 45,7 %, а под *Agrostis tenuis* на 50,4% (табл. 1). Можно констатировать, что за время экспонирования растений на полигоне за один вегетационный год произошло снижение в почве концентрации ПХБ в среднем в 2 раза. В процентном отношении распределение гомологических групп конгенов в почве

после выращивания данных видов растений практически одинаково (табл. 1). При этом отмечено, что изменение содержания отдельных групп конгенов не пропорционально их количеству в исходной почве. Так, концентрации три- тетра- и гексахлорбифенилов в почве уменьшились в 2-2,7 раза, пента- и гептахлорбифенилов – близки к исходной почве, а октахлорбифенила - незначительно возросло. Так же произошло

увеличение содержания тяжелых (5-8 атомов хлора) фракций ПХБ – с 46% до 54-55% относительно исходной почвы, что, по-видимому, связано с деградацией в первую очередь легких фракций поллютанта ризосферными микроорганизмами, когда обычные корневые выделения содержат соединения, химически подобные органическому загрязнителю. Увеличение содержания в почве октахлорбифенила после выращивания *Medicago sativa* на 0,2 мкг/кг, а *Agrostis tenuis* на 0,12 мкг/кг объясняется десорбцией неэкстрагируемых молекул, описанной выше.

Особое внимание нами уделено изменению содержания в почве диоксиноподобных ПХБ. В загрязненной аллювиально-луговой почве их доля составляла 25% от общего количества данного поллютанта, в почве после выращивания *Medicago sativa* 14,8%, *Agrostis tenuis* -14,3% соответственно. В абсолютных величинах количество диоксиноподобных соединений снизилось в 3-3,5 раза относительно исходного содержания в почве и было пропорционально для каждого из приведенных конгенов (табл. 2).

**Таблица 2.** Изменение содержания диоксиноподобных конгенов ПХБ в почве после выращивания растений

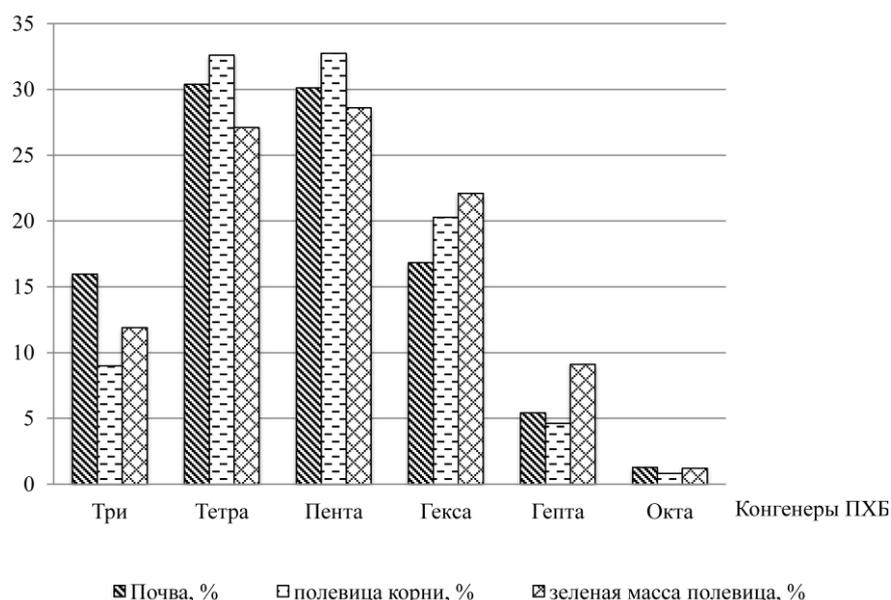
Диоксиноподобные ПХБ	Загрязненная почва до выращивания растений	Почва после выращивания <i>Agrostis tenuis</i>	почва после выращивания <i>Medicago sativa</i>
	мкг/кг	мкг/кг	мкг/кг
77	1,04	0,31	0,35
105	11,1	3,24	3,57
118	20,52	6,12	7,01
126	3,06	0,70	0,84
156	5,48	1,49	1,65
157	0,07	0,02	0,02
167	4,55	1,24	1,38
189	0,39	0,12	0,13
сумма	46,21	13,24	14,95

Возможно, что корневые экссудаты могут влиять на взаимодействие между минеральными

поверхностями и загрязнителями, увеличивая биодоступность последних для микроорганизмов-деструкторов без одновременного усиления воздействия поллютантов на токсические рецепторы растения. В противном случае увеличение биодоступности поллютанта в ризосфере будет вести к повышению его фитотоксичности. Однако во время эксперимента, в отличие от лабораторных исследований, не выявлено угнетения растений за вегетационный период.

Процессы поглощения ксенобиотиков у корней и листьев отличаются друг от друга, так как для того, чтобы попасть в корень, вещества должны пройти только через клеточную стенку, а чтобы попасть в лист, ксенобиотики должны пройти, либо через устьица, либо через кутикулы эпидермиса. Поэтому листья поглощают вещества более избирательно, чем корни. В результате эксперимента *in situ* при выращивании *Agrostis tenuis* и *Medicago sativa* происходит накопление ПХБ в корневой и надземной массе растений. При этом в корнях *Agrostis tenuis* и *Medicago sativa* данного поллютанта накопилось в 3,2-1,6 раза больше, чем в надземной массе, что на наш взгляд связано с эффектом солибилизации.

Накопление ПХБ данными видами растений несколько отличается друг от друга. Сравнение распределения групп конгенов в почве после выращивания *Agrostis tenuis* и в растении показало, что в корнях накапливается больше ПХБ с 4 – 6 атомами хлора относительно почвы. В надземной массе по сравнению с почвой выше содержание гекса- и гептахлорбифенилов (рис. 1). Содержание легких фракций составляет около 40%. Для *Medicago sativa* картина несколько иная (рис. 2). В корнях относительно почвы преобладают две группы конгенов с 5 и 6 атомами хлора, в зеленой массе в большем количестве присутствуют легкие фракции (три-тетрахлорбифенилы) – более 60%. Различия в распределении групп ПХБ между данными видами растений, по-видимому связаны с их анатомическим строением. Относительно исходной почвы *Medicago sativa* в сумме накопила 1,2 %, *Agrostis tenuis* – 0,7 % ПХБ.



**Рис. 1.** Распределение групп конгенов ПХБ при выращивании *Agrostis tenuis*

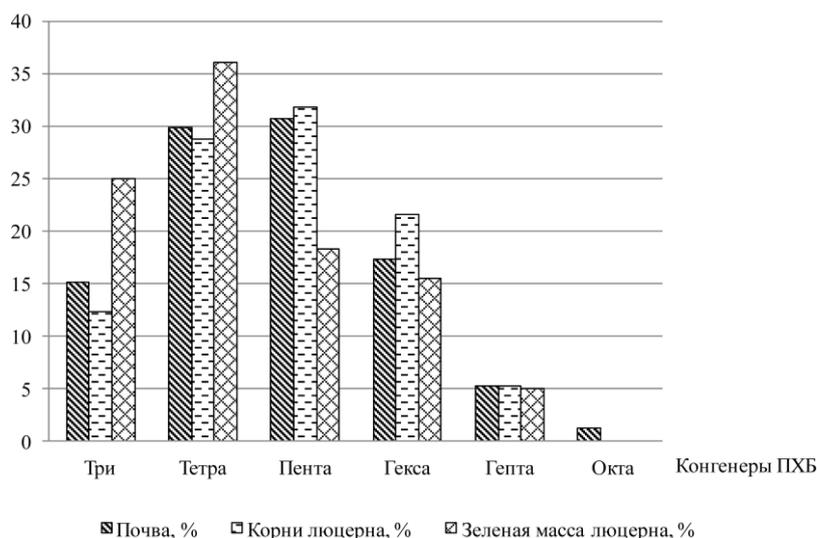


Рис. 2. Распределение групп конгенов при выращивании *Medicago sativa*

**Выводы:** фитодеградация с использованием *Agrostis tenuis* и *Medicago sativa* может быть приемлемой технологией доочистки для удаления остаточных количеств ПХБ из почвы на участках обработанных аминокислотным реагентом. Концентрации ПХБ сократились через 1 год более чем на 45% под воздействием данных видов растений. Отмечено снижение в 3-3.5 раза содержания диксиноподобных ПХБ в почве после выращивания *Agrostis tenuis* и *Medicago sativa*, что свидетельствует о резком снижении токсичности остаточного количества ПХБ. Установлено, что накопление ПХБ представленными растениями в процессе вегетации незначительно и не может привести к повышению уровня загрязнения почвы после их отмирания. В то же время, не затронуты такие важные связанные с ризосферой аспекты как фитоэкстракция, фитостабилизация, ризофилтрация. В настоящее время эти процессы активно исследуются, появляются новые факты, подтверждающие, что роль микроорганизмов в ризосферной деградации поллютантов многогранна и неразрывно связана с функциями растения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Аладин, Д.Ю. Применение люцерны полевой *Medicago sativa* и полевицы тонкой *Agrostis tenuis* для фитомелиорации почв / Д.Ю. Аладин и др. // Почвы Азербайджана: генезис, география, мелиорация, рациональное использование и экология: Сб. мат-лов Междун. науч. конф. – Баку, 2012. С. 834-837.
2. Квесцмадзе, Г.И. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях // Г.И. Квесцмадзе и др. – М.: Наука, 2005. 199 с.
3. Anderson, T.A. Bioremediation in the rhizosphere / T.A. Anderson, E.A. Guthrie, B.T. Walton // Environ. Sci. Technol. 1993. Vol. 27, N 13. P. 2630-2636.
4. Schnoor, J.E. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants / J.E. Schnoor, L.A. Licht, S.C. McCutcheon et al. // Environ. Sci. Technol. 1995. Vol. 29, N 7. P. 318-323.
5. Демин, Д.В. Исследование деструкции полихлорбифенилов натриевыми солями аминокислот и гуминовыми кислотами в почвах / Д.В.Демин и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т.15, № 3(4). С. 1282-1286.
6. Cunningham, S.D. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants / S.D. Cunningham, T.A. Anderson, A.P. Schwab, E.G. Hsu // Adv. Agron. (Year-Book). 1996. Vol. 56. P. 55-114.
7. Hegde, R.S. Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of phytoremediation technology / R.S. Hegde, J.S. Fletcher // Chemosphere. 1996. Vol. 32, N 12. P. 2471-2479.
8. Siciliano, S.D. Enzymatic activity in root exudates of Dahurian wild rye (*Elymus dauricus*) that degrades 2-chlorobenzoic acid / S.D. Siciliano, H. Golbie, J.J. Germida // J. Agr. Food Chem. 1998. Vol. 46, N 1. P. 5-7.
9. Joner, E.J. Nutritional constraints to degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in a simulated rhizosphere / E.J. Joner, S.C. Corgie, N. Amellal, C. Leyval // Soil Biol. Biochem. 2002. Vol. 34, N 6. P. 859-864.

## ALLUVIAL MEADOW SOIL REMEDIATION OF PCB CONTAMINATION WITH SOIL RECLAMATION PLANTS

© 2016 S.M. Sevostyanov, D.Yu. Aladin, N.F. Deeva, D.V. Demin

Institute of Basic Biological Problems RAS, Pushchino

As a result of the processes occurring in the interaction of plants *Medicago sativa* (alfalfa) and *Agrostis tenuis* (Common Bent) and contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs) alluvial-meadow soils occurs 45-50% reduction in pollutant concentrations. In addition to reducing pollution, there is a change congener composition of PCBs in soil.

Key words: soil, xenobiotic, polychlorinated biphenyls (PCBs), phytoremediation, root exudates, soil reclamation plants

Sergey Sevostyanov, Candidate of Biology, Chief of the Functional Ecology Laboratory. E-mail: Sevost2000@rambler.ru; Danila Aladin, Research Fellow at the Functional Ecology Laboratory. E-mail: aladin-danila@rambler.ru; Nadezhda Deeva, Senior Research Fellow at the Functional Ecology Laboratory. E-mail: ndeeva@rambler.ru; Dmitriy Demin, Candidate of Biology, Senior Research Fellow at the Functional Ecology Laboratory. E-mail: nimedd@yandex.ru