

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Казанский государственный аграрный университет»

Факультет лесного хозяйства и экологии
Кафедра «Таксации и экономики лесной отрасли»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на соискание квалификации (степени) «бакалавр»

ТЕМА: «**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОГЛОЩЕНИЯ
ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ РАСТЕНИЯМИ**»

Направление подготовки: 05.03.06 - Экология и природопользование
Направленность (профиль): «Экология»

Обучающийся: Вильданов Ильназ Зуфарович



подпись

Руководитель: Гибадуллин Радик Зифарович к.б.н., доцент

Ф.И.О.

ученое звание



подпись

Обсуждена на заседании кафедры и допущена к защите (протокол № 11 от 17
июня 2020 г.)

И.о. зав. кафедрой: Губейдуллина Алсу Харисовна к.б.н., доцент

Ф.И.О.

ученое звание



подпись

Казань – 2020 г

СОДЕРЖАНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	3
1.	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	4
2.	ПРОГРАММА, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	19
2.1.	<i>Программа и методы исследований</i>	19
2.2.	<i>Общая характеристика объектов исследования</i>	22
3.	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ	24
3.1.	<i>Экспериментальные данные. Выборка и анализ.</i>	24
3.2	<i>Содержание подвижных и валовых форм тяжелых металлов в почве</i>	27
3.3	<i>Содержание тяжелых металлов (Cd, Pb и Zn) в опытных растениях при разном уровне их содержания в почве</i>	28
3.4	<i>Расчет коэффициента биологического поглощения и транслокационных коэффициентов</i>	31
	ВЫВОДЫ	41
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	42
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	43

РЕФЕРАТ

Ключевые слова: загрязнение воздуха, биодоступность, транслокация, тяжелые металлы.

Аннотация: наиболее важными источниками загрязнения тяжелыми металлами в порядке их значимости являются загрязнение воздуха, речные отложения, шламы сточных вод, городские отходы, сельскохозяйственные химикаты и промышленные отходы. Цель работы: изучить накопления тяжелых металлов в различных частях высших растений и оценить биологическое поглощение и транслокацию тяжелых металлов в растениях в условиях комплексного загрязнения дерново-подзолистых среднесуглинистых почв тяжелыми металлами. Были поставлены задачи: 1. Определить содержание подвижных и валовых форм тяжелых металлов (Zn, Cd, Pb) при разном уровне их внесения в серые-лесные среднесуглинистые почвы. 2. Установить степень накопления тяжелых металлов в биологической массе экспериментальных растений (герань и петунья) при разном уровне загрязнения почвы тяжелыми металлами. 3. Оценить фиторемедиационный потенциал растений (герань и петунья) по показателям: коэффициент биологического поглощения и транслокационный коэффициент. Анализ экспериментальных данных, позволяет утверждать, что изученные виды растений не относятся к гипераккумуляторам по отношению к вышеуказанным элементам. При этом отмечена способность накапливать тяжелые металлы и переносить их от корней к наземным органам при некоторых уровнях загрязнения.

Keywords: air pollution, bioavailability, translocation, heavy metals.

Abstract: the most important sources of heavy metal pollution in order of importance are air pollution, river sediments, sewage sludge, urban waste, agricultural chemicals, and industrial waste. Objective: to study the accumulation of heavy metals in various parts of higher plants and evaluate the biological uptake and translocation of heavy metals in plants under conditions of complex contamination of sod-podzolic medium-loamy soils with heavy metals. Tasks were set: 1. Determine the content of mobile and gross forms of heavy metals (Zn, Cd, Pb) at different levels of their introduction into gray-forest medium loam soils. 2. Determine the degree of accumulation of heavy metals in the biological mass of experimental plants (geraniums and petunias) at different levels of soil contamination with heavy metals. 3. Evaluate the phytoremediation potential of plants (geraniums and petunias) by indicators: biological absorption coefficient and translocation coefficient. Analysis of experimental data suggests that the studied plant species do not belong to hyperaccumulators in relation to the above elements. At the same time, the ability to accumulate heavy metals and transfer them from the roots to the ground organs at certain levels of pollution was noted.

Введение

Загрязнение почв и сельскохозяйственных угодий - сложное и серьезное явление, которое в последние десятилетия усилило свои негативные последствия для окружающей среды. Перенос токсичных элементов в пищевую цепь человека представляет собой конкретную опасность, с которой приходится сталкиваться с учетом возможности для растений накапливать и переводить загрязняющие вещества на съедобные и собранные части. Традиционные технологии удаления загрязняющих веществ могут быть успешными в конкретных ситуациях, но затраты, связанные с этими технологиями, очень высоки. Мировым сообществом

предпринимаются активные усилия по разработке новых, более эффективных методов устранения загрязнения почв, поэтому в настоящее время основное внимание уделяется инновационным биологическим технологиям, таким как фиторемедиация, на основе использования растений для извлечения, секвестрации и/или детоксикации загрязнителей [15]. Продолжается развитие фиторемедиационных технологий, включающих трансгенные и нетрансгенные подходы, а также различные биологические, технические, социальные и экономические аспекты. Актуальность вопроса, ставит перед нами необходимость изучить накопления тяжелых металлов в различных частях высших растений и оценить биологическое поглощение и транслокацию тяжелых металлов в растениях в условиях комплексного загрязнения почв тяжелыми металлами.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Наиболее важными источниками загрязнения тяжелыми металлами в порядке их значимости являются загрязнение воздуха, речные отложения, шламы сточных вод, городские отходы, сельскохозяйственные химикаты и промышленные отходы.

После вступления в силу закона, регулирующего содержание свинца в бензине, накопление свинца на заводах, расположенных вблизи автомагистралей и дорог, значительно сократилось. Опасное количество свинца, однако, по-прежнему сосредоточено на 10-20 м по бокам автомагистралей и дорог, а в полосе до 5 м также наблюдаются более высокие концентрации кадмия [12].

Свойства почвы, такие как текстура, значение pH и ионообменная способность, сильно влияют на доступность следовых металлов для

растений. Свинец, хром и ртуть обычно достаточно плотно фиксируются в почвах, в то время как кадмий и цинк могут легко поглощаться оттуда корнями растений. Загрязнение пищевых продуктов и кормов свинцом обычно обусловлено выбросами из воздуха, а не его поглощением почвами.

Обсуждаются руководящие принципы по критическому содержанию в городских отходах, растениях и почвах. Значительные различия в поглощении существуют не только между элементами и типами почвы, но и в зависимости от семейств растений, видов растений и соответствующих органов растений. Относительно низкие концентрации в основных продуктах питания могут быть более опасными, чем более высокое содержание в пищевых продуктах, потребляемых в небольших количествах [13].

Избыточное воздействие на животных и человека высокого содержания в растениях возможно с помощью свинца, кадмия и таллия (и в некоторой степени также с помощью меди), тогда как цинк, никель, хром и ртуть являются более токсичными для растений, чем опасность, которую такие пищевые растения представляют для их потребителей.

К счастью, критическое содержание тяжелых металлов в растениях и почвах до сих пор было установлено только на небольших участках. Участки с наибольшим накоплением тяжелых металлов в почвах и растениях встречаются вблизи промышленных заводов, городов, рек.

Металлы после того, как они выполнили свою работу в различных продуктах. Они входят в отходы, из которых они могут затем поступать в обрабатываемую почву через городской компост и шламы сточных вод или через сточные воды и пыль с свалок и свалок [16].

Обобщает цикл тяжелых металлов в промышленных обществах.

После обработки человеком в промышленности тяжелые металлы транспортируются в почвы через загрязненный воздух, жидкие и твердые

отходы (шлам сточных вод и компост), и некоторыми сельскохозяйственными химическими веществами.

Загрязнение почвы тяжелыми металлами является одной из наиболее серьезных опасностей для сельскохозяйственных почв. Фиторемедиация является потенциально эффективной технологией восстановления загрязненных почв и вод. Помимо гипераккумуляторных травянистых растений, несколько видов деревьев являются интересными в этом вопросе. Многие древесные растения быстро растут, имеют глубокие корни, производят обильную биомассу, просты в сборе урожая, и несколько видов выявили некоторую способность к переносу и накоплению тяжелых металлов. В настоящее время имеются биотехнологии для изучения этого потенциала и расширения возможности эксплуатации деревьев для восстановления [10]. Использование *in vitro* культур, роль бактерий и микоризы, мощный инструмент генной инженерии, являются некоторыми из аспектов, сфокусированных в этой статье, которые открывают перспективы.

Глобальное значение для лучшего понимания процессов, связанных с поглощением тяжелых металлов древесными растениями. В последние годы достигнут значительный прогресс в области идентификации нативных растений и разработки генетически модифицированных древесных растений для восстановления окружающей среды, загрязненной тяжелыми металлами. Несмотря на интенсивные исследования, проведенные в последние годы, лишь немногие полевые испытания продемонстрировали целесообразность описанного подхода, в связи с чем были приложены значительные усилия.

В последние десятилетия усилилось загрязнение почв и сельскохозяйственных угодий. Перенос токсичных элементов в пищевую цепь человека представляет собой конкретную опасность, с которой приходится сталкиваться с учетом возможности для растений накапливать и переводить загрязняющие вещества на съедобные и собранные части. Традиционные технологии удаления загрязняющих веществ могут быть успешными в конкретных ситуациях, но затраты, связанные с этими

технологиями, очень высоки [11]. Предпринимаются активные усилия по разработке новых, более эффективных с точки зрения затрат методов устранения загрязнения загрязненных почв, поэтому в настоящее время основное внимание уделяется инновационным биологическим технологиям, таким как фиторемедиация, на основе использования растений для извлечения, секвестрации и/или детоксикации загрязнителей [22]. Продолжается развитие фиторемедиационных технологий, включающих трансгенные и нетрансгенные подходы, а также различные биологические, технические, социальные и экономические аспекты. Биотехнология, применяемая для изучения возможностей восстановления древесных растений, все чаще демонстрирует их эффективность.

Ранее исследования по методам фиторемедиации были довольно скудными. Теперь научный и общественный интерес к этой теме существенно возрос после усиления давления общественного мнения. Использование растений для обеззараживания почв и вод было разработано совсем недавно, первые доклады появились в восьмидесятых годах, за которыми последовали более исчерпывающие статьи в девяностые годы. Многие еще предстоит сделать для понимания основных механизмов и повышения уровня знаний о прикладных программах, однако ее полезность была продемонстрирована на многих объектах, и в настоящее время эта технология используется несколькими экологическими компаниями.

Фиторемедиация основана на удалении загрязняющих веществ из почвы с помощью таких механизмов, как фитоэкстракция, фитодеградация, ризофильтрация, фитостабилизация и фитоволатинизация, но механизмы, участвующие в восстановлении тяжелых металлов, ограничены поглощением, адсорбцией, переносом и связыванием в вакуоли, гиперкумуляцией и, в некоторых случаях, испарением [23]. В этой области исследования пластичности распределения и разделения металлов в растениях могут иметь большое значение при присутствии в повышенных концентрациях токсичных элементов как основных (медь, железо, марганец,

молибден, цинк), так и несущественные металлы (например, кадмий, хром, свинец, ртуть). Ртуть и селен также могут быть превращены растениями в летучую форму для высвобождения и разбавления в атмосферу. Тяжелые металлы не могут метаболизироваться, поэтому единственной возможной стратегией, которую можно применять, является их извлечение из загрязненной почвы и перенос на меньший объем урожайных растений для их удаления. Биомасса может также использоваться для производства энергии и, если это экономически выгодно, металлы могут быть, в конечном счете, извлечены.

Следует подчеркнуть, что некоторые процессы могут ограничивать эффективность растений при фиторемедиации, например доступность ионов токсичных металлов в почве для подъема корнями, скорость их транслокации из корней в побеги и уровень толерантности, скорость химического превращения в менее токсичные соединения. Исходя из этого, мы находим механизмы, связанные с толерантностью к растительным металлам и гомеостазом. Восстановление с использованием установок может занять больше времени, чем другие технологии, но наиболее важным ограничением является то, что оно наиболее подходит для случаев, когда загрязняющие вещества присутствуют на небольших уровнях в корневом слое.

Технология фиторемедиации недавно была подробно рассмотрена и несколько видов были классифицированы как гипераккумуляторы и тщательно исследованы. Однако в больших масштабах поглощение металлов деревьями может быть более эффективным, главным образом из-за более глубокой корневой системы и большего выхода биомассы. Высокая производительность и повышенное поглощение и перемещение загрязняющих веществ в урожайную биомассу являются основой для эффективного восстановления почв с помощью сосудистых растений.

Некоторые древесные породы могут преимущественно использоваться также для фиторемедиации почв и грунтовых вод от органических загрязнителей и углеводов. Потенциал фиторемедиации загрязненных

металлами почв, выраженный лесными деревьями, был оценен для нескольких видов в последние годы. Устойчивость к металлам часто представляется клоно- или гибридно-специфичной, а не видоспецифичной.

Трудности экспериментирования на очень крупных долгоживущих организмах, таких как лесные деревья, мотивируют развитие модельных систем. Помимо использования гидропонных культур, системы моделей *in vitro* с использованием ростков и клеточных культур растений показали, что они являются полезным инструментом для исследования эффективности поглощения металла и транслокации. Культура клеток и органов, по сути, а также гидропоника позволяют очень быстро накапливать данные по сравнению с целыми растительными экспериментами в полевых условиях и предлагают преимущество тестирования воздействия загрязняющих веществ в контролируемых условиях [26]. Гидропонический скрининг часто используется для оценки толерантности, накопления и транслокации у растений. Результаты, полученные в гидропонике и в полевых экспериментах, являются сопоставимыми. Однако всегда целесообразно подтвердить данные, полученные гидропоническими испытаниями, полевыми испытаниями. Используя этот метод, несколько исследований касались, например, реакции ивы на металлический коктейль. Ивы и тополя в присутствии кадмия, ответ клона *Populus x euramericana* на высокие концентрации меди, механизм сопротивления алюминию *Picea abies*, определение роли метаболизма глутатионредуктазы в защите *poplar* (*Populus deltoides* x *P. nigra*) от высокой концентрации цинка [22].

Как заявил Голан-Гольдхирш и др. [66], использование *in vitro* систем позволяет рассеять сложную систему взаимодействия растений, почвы и микроорганизмов для оценки влияния стрессовых факторов на метаболизм, специфические ферменты и метаболиты, участвующие в реакции растений на загрязнитель. Кроме того, для многих древесных видов применение методов

размножения *in vitro* позволяет быстро производить растения и применять перспективные программы генной инженерии [31].

Установлено, что высокая концентрация цинка негативно влияет на фотосинтетическую технику в тополе. Ингибирование адвентиативного корневого образования и хлорирования листьев указывает на то, что используемый клон был толерантным к внешним концентрациям. В эвкалиптовом глобуле умеренные концентрации этого металла, как было показано, либо усиливаются, либо не оказывают влияния на коровье волоски. Фиторемедиационные потенциалы поплавокных линий (*Populus nigra* и трансгенные *P. canescens*) исследовали с использованием *in vitro* культур листовых дисков и обнаружили, что цинк был фитотоксичным только при высоких концентрациях во всех линиях *P. canescens*, но *P. nigra* была более чувствительной [21]. Было показано, что кадмий, добавленный в культуральную среду, уменьшает свежий и сухой вес и длину отростка березы, в то время как длина корня не затрагивалась [26]. Медь, марганец и цинк показали отрицательное влияние на рост отростка у *Ailanthus altissima*, считающегося быстро растущим видом. Цинк был обнаружен токсичным в культуре (*Populus tremula* x *tremuloides*) при концентрации, в то время как свинец при той же концентрации не проявлял токсического действия и накапливался при 3500 мкг на г биомассы. Исследования *in vitro* были также разработаны для исследования влияния высоких концентраций цинка и меди на биосинтез и накопление полиамина в *Populus alba*. На основе симптомов листьев, скорости адвентального образования корня и получения этилена было обнаружено, что Zn при концентрации 0,5-1 мг/кг является временно токсичным, в то время как при 2-4 мг/кг является все более токсичным. Кроме того, Cu сильно снижал колоректацию уже при 5 мг/кг и вызывал тяжелые, зависящие от дозы симптомы токсичности (колоректальный хлороз и некроз) с использованием концентраций до 500 мг/кг. В *in vitro* растущих микросферах *Populus alba* исследовали влияние высоких концентраций кадмия, меди, цинка и мышьяка, показывая различия в реакции различных

клонов. Культуры аксеновых опухолевых клеток тополя тестировали на способность принимать трихлорэтилен и разрушать его до нескольких известных продуктов метаболизма, в то время как культуры тополя (*Populus deltoides* × *P. Nigra*) культуры *in vitro* использовали для разработки математических моделей для определения путей разложения нитраминовых соединений в растительных клетках. Толерантность к металлу была обнаружена в культуре каллюса, полученной из саженцев *Acer rubrum*, растущих в почве, загрязненной цинком, кадмием, никелем и мышьяком. Была обнаружена положительная линейная корреляция между стойкостью каллюса к цинку и общим содержанием Zn в почве под отобранными деревьями, тогда как никаких существенных корреляций с другими металлами обнаружено не было. В культуре *Acer pseudoplatanus* callus черты Cu-, Zn- и Cd- устойчивости были идентифицированы в клеточных линиях, происходящих из деревьев на участке, загрязненном этими металлами. Скрининги *in vitro* также использовали для исследования того, как некоторые тяжелые металлы влияют на прорастание пыльцы и удлинение трубки в *Pinus resinosa* и для тестирования толерантности к Zn и Cu в микоризаловых изолятах, собранных в заброшенных рудниках Cu, ввиду их инокуляции в саженцы *Pinus sylvestris*. Комбинированную микропропагандацию и гидропоновую культуру использовали для изучения толерантности к меди и цинку у березы, обнаружив, что клон, полученный из участка, загрязненного Pb/Zn, показал большую толерантность к Cu и Zn, чем клоны, полученные из участка, загрязненного Cu/Ni или из незагрязненного участка [27].

Бактерии, живущие в тканях растений, не вызывая заболеваний, называют эндوفитами. Некоторые из них показали способность усиливать рост растений и устойчивость к биотическим и абиотическим напряжениям различными механизмами (например, фиксацией азота, выработкой фитогормонов, солюбилизацией минералов и т. д.), поэтому в последнее время внимание сосредоточивается на роли эндوفитических бактерий в фитоэдемации. Эндифиты инокулировали и исследовали, например, в

гибридной ели, сосне, пихте, тополе и иве. На основе их потенциала для восстановления были идентифицированы и протестированы три штамма *Pseudomonas* в клоне гибридного кottonвуда (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*). Значительная часть исследований на эту тему была посвящена активности эндофитов на углеводородах. Например, в гибридной кottonвуде был обнаружен штамм эндофита *Rhizobium tropici*, активный при деградации взрывчатых веществ, а также штамм *Methylobacterium*, выделенный из гибридного тополя. Бактерии были сконструированы для усиления деградации трихлорэтилена наблюдали горизонтальный перенос гена плазмиды, приводящей к деградации толуола.

Что касается конкретно тяжелых металлов, то было отмечено, что устойчивые к тяжелым металлам эндофиты присутствуют в различных растениях-гипераккумуляторах, растущих на загрязненной тяжелыми металлами почве [17]. Среди травянистых растений, например, эндофиты *Thlaspi goesingense* были обнаружены более толерантными к высокой концентрации никеля, чем соответствующие ризосферные бактерии, эндофитные бактерии *Nicotiana tabacum* могли уменьшить фитотоксичность кадмия, рекомбинантные устойчивые к тяжелым металлам эндофитные бактерии были изучены в *Lolium perenne*. Среди древесных видов некоторые изоляты гибридных кottonджей продемонстрировали толерантность к тяжелым металлам. Бактерии, связанные с Zn/Cd-аккумулирующей *Salix carpea*, были изучены относительно их потенциала для поддержки фитоэкстракции тяжелых металлов [23].

Хорошо известно, что в поглощении металла участвуют также арбузовые микоризы; Их присутствие в почве может существенно влиять на реакцию растений на напряжение металла. Имеется обширная литература о воздействии микоризальной колонизации растений, живущих в загрязненных тяжелыми металлами почвах, о защитной роли микоризы от вызванного тяжелыми металлами окислительного стресса и об их возможной роли в

восстановлении [8]. Например, в гипераккумулирующем *Pteris vittata* было обнаружено, что они увеличивают поглощение мышьяка. Адриенсен и др. [22] обнаружено, что саженцы *Pinus sylvestris*, колонизированные Zn-толерантным изолятом *Suillus bovinus*, росли гораздо лучше и оставались физиологически здоровыми при воздействии повышенной концентрации Zn, чем саженцы, не инокулированные или колонизированные Zn-чувствительным изолятом. Реакцию на высокую концентрацию меди и цинка исследовали на клонах тополя, инокулированных арбузовыми грибами микоризы, в то время как в микоризе *Betula* spp. Изучали толерантность к цинку и накопление Cu и Pb [28]. С помощью рентгеновского микроанализа тяжелых металлов было обнаружено, что в микоризированных тканях внеклеточное комплексообразование Cd происходило преимущественно в сетчатой гифе Хартига и как внеклеточное комплексообразование, так и цитозольное связывание Zn происходило в грибной ткани [10]. Потенциальные преимущества эктомикорризовых грибов в защите растений-хозяев от загрязнения металлами были также исследованы Blaudez et al. после испытания 39 эктомикорризовых изолятов на их толерантность к кадмию, меди, никелю и цинку. Недавно оценивали потенциал *Salix viminalis* и *Populus x generosa* для фитоэкстракции тяжелых металлов, инокулированных или не инокулированных грибом *Glomus intradices*, в то время как в *Eucalyptus globulus*, выращенном в Zn-загрязненной почве, исследовали улучшающий потенциал взаимодействий между микоризовыми грибами.

Молекулярная биология и геновая инженерия все чаще рассматриваются в качестве эффективных инструментов для лучшего понимания и улучшения фиторемедиационной способности растений, биологические функции которых в настоящее время могут быть детально проанализированы и частично модифицированы. Системы устойчивости к металлам более известны в микроорганизмах. В растениях достаточно охарактеризовано лишь несколько систем толерантности к металлу и/или связывания [24]. В

последние годы на молекулярном уровне было выявлено несколько ключевых стадий, позволяющих все шире применять молекулярно-генетические технологии и трансгенный подход к лучшему пониманию механизмов, связанных с толерантностью и накоплением тяжелых металлов в растениях [25]. В классических генетических исследованиях было продемонстрировано, что только несколько генов отвечают за толерантность к металлу. Перенос и/или сверхэкспрессия генов, ответственных за поглощение, транслокацию и связывание металлов, может позволить продуцировать растения, которые в зависимости от стратегии могут быть успешно использованы при фиторемедиации. В этом случае особое внимание должно уделяться проблемам, связанным с внедрением генетически измененных деревьев, особенно в том, что касается их правового и социального признания. Содействие росту и производству биомассы является коррелированной задачей, решаемой, например, за счет увеличения биосинтеза гиббереллина [27].

Улучшение фиторемедиационных свойств растений может быть достигнуто модификацией их первичного и вторичного метаболизма и введением новых фенотипических и генотипических признаков [30]. Даже если большинство генов, участвующих в поглощении, транспортировке и связывании металлов, были изучены на травянистой модели растения *Arabidopsis*, следует считать, что этот вид, а также наиболее распространенные виды, определенные как гипераккумуляторы, обладают ограниченной фиторемедиационной способностью из-за их малого размера или низкой скорости роста. Напротив, крупные, быстрорастущие растения, как и некоторые древесные растения, являются важным инструментом для этой цели; Например, на всплывии были достигнуты разумные частоты преобразования [29].

Однако исследования по видам гипераккумуляторам открывают путь к переносу и применению растений с высоким содержанием биомассы. Среди

них виды деревьев их гибриды стали модельной системой в биотехнологии лесных деревьев, благодаря нескольким полезным особенностям: короткому циклу вращения, быстрому темпу роста и легкости вегетативного размножения и размножения *in vitro* [14]. Кроме того, геном был полностью секвенирован [17]. Однако всегда важно учитывать риски, связанные с биотехнологическими применениями, и тщательно оценивать полевые характеристики трансгенных растений.

Индукция волосняных корней с помощью *Agrobacterium rhizogenes*, вероятно, является самым простым способом увеличения корневой биомассы и, следовательно, улучшения поглощения металла. Это было продемонстрировано для некоторых растений.

Был получен трансгенный белый тополь, экспрессирующий ген *PsmTa1* из *Pisum sativum* для белка, подобного металлотионеину. Трансформированные растения проявляли повышенную устойчивость к тяжелым металлам, выживая при высоких концентрациях CuCl_2 в культуре *in vitro*, что сильно влияло на нетрансгенные растения. Способность микроотверстий к укоренению сохранялась в трансгенных линиях, подвергавшихся воздействию 0,1 мг/кг CuCl_2 , в то время как она полностью разрушалась в нетрансгенных побегах. В присутствии 1 мг/кг ZnSO_4 нетрансформированные побеги укореняются в избытке, в то время как в трансгенных линиях наблюдались различные скорости роения.

Гены, кодирующие ферменты, изменяющие окислительное состояние тяжелых металлов, могут быть введены в растения [14]. Например, по сравнению с диким типом трансгенный *Populus deltoides* чрезмерно экспрессировал *mer-A9* и *mer-A18* гены при выращивании в почве с высокой концентрацией ртути, развивая более высокую биомассу и большее количество Hg (0), которая испаряется через клеточную поверхность [29]. Повышенную толерантность к ионной ртути сначала получали в желтом тополе (*Liquidambar styraciflua*), трансформированном геном *mer-A* [19]. Для восстановления Hg *Populus deltoides* был сконструирован с бактериальной

mer-A (ртутная ионная редуктаза) и mer-B (органомерная лиаза - [29]); Трансгенные деревья, экспрессирующие оба гена, проявляли толерантность до 10 мг/кг фенилмерцуриацетата (РМА - [10]). Значительные результаты по толерантности к ртути и соответствующей восстановительной способности были получены также в *Oryza sativa* и в *Spartina alterniflora* [27]. В *Salix* spp. Было доказано, что большая часть ртути накапливается и сохраняется в клеточной стенке корней и лишь очень небольшая часть передается побегам [17].

Генная инженерия для снижения арсената, увеличения транслокации от корня к отростку и испарения недавно была проиллюстрирована и обсуждена [18]. Арабидопсис трансформировали для лучшего контроля подвижности и связывания мышьяка. В *Pteris vittata* были идентифицированы гены, кодирующие ферменты с арсенатной восстановительной активностью.

Для селена была применена стратегия защиты синтеза белка от активности этого металла в трансформированном *Arabidopsis* экспрессией селеноцистеиновой лиазы млекопитающих, и в настоящее время она может быть испытана на древесных видах. Трансгенное всплытие с повышенной активностью глутатиона пероксидазы показало повышенную толерантность к цинку, вероятно, благодаря повышенной способности детоксикации активных видов кислорода, генерируемых загрязнителем [16]. Изменения в фотосинтетических параметрах и снижение роста были зарегистрированы для клона *Populus x euramericana* после обработки высокими концентрациями цинка [24].

Кадмий в окружающей среде является результатом промышленных процессов, загрязнения городов (системы отопления и перевозки), удобрений и минерализации горных пород [14]. Чувствительность к кадмию и его накопление в некоторых древесных породах были недавно изучены в Швеции [22]. В относительно новой стратегии, направленной на разделение металлов, толерантность к свинцу и кадмию была повышена в *Arabidopsis* за

счет сверхэкспрессии дрожжевого вакуумного переносчика белка YCF1, демонстрируя возможность разработки фиторемедиаторов для повышения их способности секвестрировать тяжелые металлы. Топлары, сверхэкспрессирующие бактериальную глутамилцистеинсинтазу в цитозоле, достигли 30-кратного увеличения своей активности в листе по сравнению с нетрансформированными контрольными группами; Это позволило увеличить накопление кадмия в ткани, но оказало лишь незначительное влияние на толерантность к кадмию [24].

Корни растений способны высвобождаться в хелатирующие агенты ризосферы, обладающие способностью связываться с металлами. Эти хелаторы металлов или другие молекулы в растительных клетках, которые имеют высокое сродство к металлам, могут помочь в связывании металлов. Растения также могут быть сконструированы для усиления синтеза хелаторов металлов. Хелаторы металлов включают фитохелатины, металлотионины, органические кислоты и аминокислоты. Эксперименты *in vitro* показали, что кадмий в форме комплекса фитохелатина гораздо лучше переносится растительным ферментом, чем его свободный радикальный ион [12]. В *Nicotiana glauca*, трансформированной геном, кодирующим фитохелатинсинтазу, накапливалось больше металлов при выращивании в минных почвах по сравнению с нетрансформированными растениями. Предпринимались попытки увеличить образование фитохелатинов путем сверхэкспрессии генов, кодирующих ферменты, стимулирующие синтез цистеина и глутатиона [15].

Металлотионеины, представляющие значительный интерес, определяются как белки с низкой молекулярной массой, богатые цистеином, которые могут связываться с тяжелыми металлами и могут играть роль в их внутриклеточном связывании. В гибридном геноме растения они образуют семейство многигенов, и было высказано предположение, что они участвуют в процессе гомеостаза металлов и, возможно, в процессе толерантности

([89]). Недавно был рассмотрен прогресс в понимании регуляции биосинтеза фитохелатинов и экспрессии генов металлотионеинов и их возможной роли в детоксикации и гомеостазе тяжелых металлов [23].

Фиторемедиация загрязненных металлами почв с помощью фитоэкстракции растений представляет собой метод, привлекающий интерес все большего числа научных кругов, и использование древесных видов, в частности, представляет собой некоторые аспекты актуальности. Биотехнология, безусловно, является мощным инструментом, позволяющим исследовать и оценить потенциал фиторемедиации. Как указано в настоящем документе, многие области исследований способствуют быстрому расширению наших знаний о соответствующих механизмах. Однако, несмотря на проведенные в последние годы интенсивные исследования по этой теме, очень немногие полевые испытания продемонстрировали техническую целесообразность и экономическую работоспособность описанных подходов [17]. Действительно, большая часть литературы редко дает информацию о практическом применении фиторедуктивных методов. Специализация и фрагментация исследований, вероятно, реальны, но это не должно рассматриваться как предел. Каждый прогресс может способствовать и сходиться, чтобы увеличить возможность выгодной эксплуатации древесных растений для фиторемедиации.

2. ПРОГРАММА, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Программа и методы исследований

Цель работы: изучить накопления тяжелых металлов в различных частях высших растений и оценить биологическое поглощение и транслокацию тяжелых металлов в растениях в условиях комплексного

загрязнения дерново-подзолистых среднесуглинистых почв тяжелыми металлами.

Исходя из цели, были поставлены задачи:

1. Определить содержание подвижных и валовых форм тяжелых металлов (Zn, Cd, Pb) при разном уровне их внесения в серые-лесные среднесуглинистые почвы.

2. Установить степень накопления тяжелых металлов в биологической массе экспериментальных растений (герань и петунья) при разном уровне загрязнения почвы тяжелыми металлами.

3. Оценить фиторемедиационный потенциал растений (герань и петунья) по показателям: коэффициент биологического поглощения и транслокационный коэффициент.

Валовое содержание тяжелых металлов (Zn, Pb, Cd) в почвах определяли после разложения смесью концентрированных кислот: фтористоводородной, азотной и соляной с последующим растворением в растворе 1 М соляной кислоты [9]. Для характеристики техногенной составляющей в загрязненных почвах использовали кислоторастворимые формы тяжелых металлов в вытяжках 1 М HCL, отношение почва: раствор – 1:10. Суспензия взбалтывалась на ротаторе в течение 1 часа с последующим фильтрованием [10]. Содержание тяжелых металлов в экстрактах определяли методом атомно-абсорбционного анализа на спектрофотометре 1 класса «Хитачи»-180-50, в пламени ацетилен-воздух. Свинец и кадмий – на ААС «Анналист 400» по методике КХА ПНДФ 14.1:2.214-06.

Образцы отобраны с учетом требований ГОСТа 17.4.3.01- 83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб». Лабораторные исследования проведены на подвижные формы тяжелых металлов атомно-абсорбционным методом. Определение содержания тяжелых металлов

проводилось по методу Крупского и Александровой в модификации ЦИНАО ГОСТ Р 50683-94, а также по ГОСТ 26483-85, ГОСТ Р 50685-94, ГОСТ Р 50684-94, ГОСТ Р 50686-94. Содержание тяжелых металлов в почве проводили по РД 52.18.191 - 90, ОСТ- 10 - 221-98. Пробоподготовка проводилась в СВЧ - минерализаторе.

Атомно-абсорбционный метод основан на измерении поглощения света свободными атомами определяемого элемента при прохождении света через атомный пар исследуемой пробы. Свободные атомы элементов, находящиеся в невозбужденном стабильном состоянии в слое нагретого газа, способны селективно поглощать свет, переходя при этом в возбуждённое состояние. Величина светопоглощения (абсорбции) зависит от концентрации определяемого элемента. Основное преимущество метода - исключительно высокая селективность определения отдельных элементов и практически полное отсутствие спектральных помех.

Статистическая обработка результатов измерения.

Обработка результатов измерений. Массовую долю определяемого элемента в пробе (X , млн^{-1}) Вычисляют по формуле где C_p - массовая концентрация элемента в растворе пробы, мкг/дм^3 $C_{хол}$ - массовая концентрация элемента в растворе холостой пробы, мкг/дм^3 $V_{пр}$ - объем раствора пробы Q - коэффициент разбавления раствора пробы - коэффициент согласования размерности единиц измерения объема M - масса навески пробы, г. Результат измерения в документах, предусматривающих его использование, может быть представлен в виде: $X \pm \Delta x$, млн^{-1} , $p=0,95$, где X - единичный результат измерений, млн^{-1} ; Δx - показатель точности методики (границы абсолютной погрешности при вероятности $p=0,95$ для $n=1$), млн^{-1} ; δx - граница относительной погрешности единичного результата измерений $\Delta x = \delta x$ - граница относительной погрешности единичного результата. Завершающей стадией количественного анализа химического состава вещества любым методом является статистическая обработка результатов

измерений. Она позволяет оценить систематические и случайные погрешности измерений. При малой выборке понимается несплошное статистическое обследование, при котором выборочная совокупность образуется из сравнительно небольшого числа единиц генеральной совокупности. Объем малой выборки обычно не превышает 30 единиц и может доходить до 4 - 5 единиц []. Расчеты проведены на прикладных программах информационных технологий статистических исследований (MS Excel). Средняя ошибка малой выборки вычисляется по формуле:

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_j + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n x_j \quad (2.1)$$

, где дисперсия малой выборки.

При определении дисперсии число степеней свободы равно $n-1$: .
Предельная ошибка малой выборки определяется по формуле

$$S^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x})^2}{n-1} \quad (2.2)$$

При этом значение коэффициента доверия t зависит не только от заданной доверительной вероятности, но и от численности единиц выборки n . Для отдельных значений t и n доверительная вероятность малой выборки определяется по специальным таблицам Стьюдента. Способы распространения характеристик выборки на генеральную совокупности.

$$X = t_{p, j} \times S / n,$$

(2.3)

2.2. Общая характеристика объектов исследования

Работа проводилась в 2019 – 2020 годах на территории Центра ландшафтного дизайна при ФГБОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет» по адресу г. Казань, ул. Ферма-2, д. 74а. Общая площадь центра около 3 га, на базе Центра имеется тепличный комплекс площадью около 650 кв.м., лабораторный комплекс, учебные классы. Центр оснащен системой орошения и центральным отоплением, благодаря чему работа в Центре ведется круглый год. Опыт был заложен с растениями герань и петунья, выращенными ранее в теплице Центра ландшафтного дизайна при ФГБОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет» по адресу г. Казань, ул. Ферма-2, д. 74а, на серой-лесной среднесуглинистой почве с внесением тяжелых металлов (Cd, Pb и Zn) на уровнях 1, 3 и 5 ПДК.

Объектом исследования являлась серая-лесная среднесуглинистая почва, с территории Центра ландшафтного дизайна при ФГБОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет» по адресу г. Казань, ул. Ферма-2, д. 74а. Перед закладкой опыта определили содержание тяжелых металлов в исходной почве. Опыт проводился с растениями при разном уровне содержания тяжелых металлов в почве: первый уровень – почва с территории Центра ландшафтного дизайна без внесения солей тяжелых

металлов, является контролем в опыте; второй – с 1 кратным внесением солей тяжелых металлов - имитирует низкий уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами, третий - 3 кратным внесением солей тяжелых металлов - имитирует средний уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами, четвертый - 5 кратным внесением солей тяжелых металлов – высокий уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами. Почву в опыты закладывали в пластмассовые цветочные горшки по 5 кг. Растения для опыта были выращены ранее в тепличных условиях. Тяжелые металлы вносили в виде растворов химически чистых солей. Перед закладкой опыта были отобраны почвенные образцы для определения содержания валовых и подвижных форм исследуемых тяжелых металлов.

Расчёт вносимых доз солей тяжёлых металлов производился на массу абсолютно сухой почвы с учётом её влажности. Каждый горшок имел этикетку, отображающую номер опыта, название растения, вариант и повторность. В течение опыта проводили общее описание состояния исследуемых растений. По окончании опыта растения извлекались из почвы для учёта их массы и аналитических исследований.

3.РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

3.1. Экспериментальные данные. Выборка и анализ.

В последнее время вблизи городов и крупных промышленных центров все больше наблюдается интенсивное загрязнение почвы тяжелыми металлами. Содержание валовых форм тяжелых металлов в дерново - подзолистых и серых лесных почвах Республики Татарстан характеризуется высокими показателями вариабельности и имеет тенденцию к увеличению в почвах более тяжелого гранулометрического состава. Средние уровни валовых и большинства подвижных форм металлов в исследуемых почвах находятся в пределах регионального фона, а наблюдаемые отклонения

связаны с местными геохимическими особенностями почвообразования. Абсолютное содержание и показатели подвижности форм Cd, Zn, Mn в дерново - подзолистых почвах существенно выше, чем в серых лесных почвах. Все это обусловлено их более легким гранулометрическим составом, низкой гумусированностью и кислой реакцией среды. При этом по остальным металлам достоверных различий между зональными типами почв установить не удалось, что может быть связано с общностью физико-химических свойств сравниваемых почв, обуславливающих геохимическую подвижность исследуемого спектра элементов [1].

Актуальность рекультивации, загрязненных тяжелыми металлами почв, с использованием специально подобранных видов высших растений и микробиоты поглощать и накапливать в своих тканях тяжелые металлы. При этом накапливают они тяжелые металлы в количествах, значительно превышающих их содержание в почве. Далее это растения удаляются и утилизируются. В настоящее время известно около 400 видов гипераккумуляторов различных металлов, использование которых справедливо вызывает интерес у экспериментаторов [5].

Исходя из выше указанного, цель работы: изучить накопления тяжелых металлов в различных частях высших растений и оценить биологическое поглощение и транслокацию тяжелых металлов в растениях в условиях комплексного загрязнения дерново-подзолистых почв тяжелыми металлами.

Исходя из цели, были поставлены задачи:

1. Определить содержание подвижных и валовых форм тяжелых металлов (Zn, Cd, Pb) при разном уровне их внесения в серые-лесные среднесуглинистые почвы.

2. Установить степень накопления тяжелых металлов в биологической массе экспериментальных растений (герань и петуния) при разном уровне загрязнения почвы тяжелыми металлами.

3. Оценить фиторемедиационный потенциал растений (герань и петуния) по показателям: коэффициент биологического поглощения и транслокационный коэффициент.

В настоящее время еще накоплено недостаточно экспериментального материала, характеризующего зависимость содержания в растениях тяжелых металлов, экстрагируемых различными химическими растворами, от их концентрации в почве. Сложность этого положения обуславливается еще и тем, что доступность для растений подвижной формы тяжелого металла зависит во многом от свойств почвы и специфических особенностей растений. При этом поведение в почве каждого элемента имеет свои конкретные, присущие ему закономерности.

Объектом исследования являлась серая-лесная среднесуглинистая почва, с территории Центра ландшафтного дизайна при ФГБОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет» по адресу г. Казань, ул. Ферма-2, д. 74а. Перед закладкой опыта определили содержание тяжелых металлов в исходной почве.

Таблица 3

Содержание тяжелых металлов в исходной почве, мг/ кг

Тяжелые металлы	Формы металлов	
	Подвижные, мг/ кг	Валовые, мг/ кг
Cd	0,21±0,08	0,59±0,11
Pb	0,56±0,04	7,9±0,05
Zn	1,58±0,06	21,0±0,4

Опыт проводился с растениями при разном уровне содержания тяжелых металлов в почве: первый уровень – почва с территории Центра ландшафтного дизайна без внесения солей тяжелых металлов, является контролем в опыте; второй – с 1 кратным внесением солей тяжелых металлов - имитирует низкий уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами, третий - 3 кратным внесением солей тяжелых металлов - имитирует средний уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами, четвертый - 5 кратным внесением солей тяжелых металлов – высокий уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами. Схема опыта представлена в тал 4.

Таблица 4

Схема опыта

№ группы	Описание
Группа 1	Без внесения ТМ
Группа 2	1 кратное
Группа 3	3 кратное
Группа 4	5 кратное

Почву в опыты закладывали в пластмассовые цветочные горшки по 5 кг. Растения для опыта были выращены ранее в тепличных условиях. Тяжелые металлы вносили в виде растворов химически чистых солей: Cd - $\text{CdSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, Pb - $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, Zn - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. Перед закладкой опыта были отобраны почвенные образцы для определения содержания валовых и подвижных форм исследуемых тяжелых металлов.

Расчёт вносимых доз солей тяжёлых металлов производился на массу абсолютно сухой почвы с учётом её влажности. Каждый горшок имел этикетку, отображающую номер опыта, название растения, вариант и повторность. В течение опыта проводили общее описание состояния исследуемых растений. По окончании опыта растения извлекались из почвы для учёта их массы и аналитических исследований.

3.2 Содержание подвижных и валовых форм тяжелых металлов в почве

Перед высаживанием опытных растений в индивидуальные, маркированные по схеме опыта горшки с почвой, с внесенными тяжелыми металлами в виде растворов химически чистых солей: Pb - $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, Zn - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, Cd - CdSO_4 , почву в каждой группе опыта проанализировали на содержание тяжелых металлов. Данные по содержанию подвижных и валовых форм тяжелых металлов (Cd, Pb, Zn) в почве представлены в таблицах 5, 6 и 7.

С увеличением содержания вносимых элементов в почве последовательно возрастает содержание их валовых и подвижных форм.

Таблица 5

Содержание в почве подвижных и валовых форм Cd, мг/кг

Вариант опыта	Подвижная форма	Валовая форма
Группа 1	0,21±0,08	0,59±0,11
Группа 2	1,11±0,01	2,0±0,8
Группа 3	3,6±0,08	5,0±0,04
Группа 4	5,52±0,05	7,20±0,09

Таблица 6

Содержание в почве подвижных и валовых форм Zn, мг/кг

Вариант опыта	Подвижная форма	Валовая форма
Группа 1	1,58±0,06	21,0±0,4
Группа 2	10,0±0,05	30,8±0,05
Группа 3	36,1±0,12	56,2±0,05
Группа 4	45,3±0,9	88,1±0,12

Таблица 7

Содержание в почве подвижных и валовых форм Pb, мг/кг

Вариант опыта	Подвижная форма	Валовая форма
Группа 1	0,56±0,04	7,9±0,05
Группа 2	27,3±0,12	120,2±0,8
Группа 3	51,3±0,09	100,3±0,06
Группа 4	54,2±0,04	152,8±0,05

3.3 Содержание тяжелых металлов (Cd, Pb и Zn) в опытных растениях при разном уровне их содержания в почве

Данные по содержанию Cd, Pb и Zn в изученных растениях при разном уровне загрязнения почвы данными металлами представлены в таблицах 8 и 9. В большинстве случаев с повышением содержания подвижной формы металлов в почве их содержание в растениях возрастает.

Таблица 8

Содержание Cd, Pb, Zn в растениях, мг/кг воздушно-сухой массы герани

	Cd		Pb		Zn	
	Надземная часть	Корни	Надземная часть	Корни	Надземная часть	Корни
Вариант опыта						
Группа 1	0,23	1,61	1,74	1,79	22,0	24,51
Группа 2	8,20	20,14	4,01	50,0	340,27	1008,42
Группа 3	20,10	30,85	5,2	10,11	178,58	95,73
Группа 4	10,18	69,22	6,4	30,3	800,1	499,99

Содержание Cd, Pb, Zn в растениях, мг/кг воздушно-сухой массы петунии

	Cd		Pb		Zn	
	Надземная часть	Корни	Надземная часть	Корни	Надземная часть	Корни
Вариант опыта						
Группа 1	0,11	2,00	2,13	1,0	39,62	39,12
Группа 2	1,29	12,41	4,61	5,4	171,0	362, 8
Группа 3	2,48	26,0	12,0	6,11	160,77	179,39
Группа 4	100,0	68,11	12,0	8,2	592,67	379,96

В таблицах 9 и 10 представлены экспериментальные данные по содержанию Cd и Zn в биомассе опытных растений, полученные в течении эксперимента. При увеличении уровня загрязнения почвы тяжелыми металлами содержание кадмия Cd в корнях растений герани и петунии последовательно возрастает: у герани от 1,61 до 69,22 мг/кг, у петунии от 2,0 до 68,10 мг/кг. Что касается накопления кадмия в надземной массе, то оно так же последовательно возрастает от 0,23 до 10,18 и от 0,11 100,0 мг/кг у герани и петунии соответственно. Причем в вариантах с высоким уровнем загрязнения кадмия Cd больше накапливается у петунии в надземной части, чем в корнях (в 1,4 раза).

Что касается свинца Pb, то из таблиц 8 и 9 видно, что наиболее активно свинец транспортировался из корней в надземные органы петунии в вариантах со средним и высоким уровнями загрязнения. Растения герань наоборот проявили достаточно высокую удерживающую способность корней по отношению к данному элементу - при высоком уровне загрязнения почвы свинец в надземных органах этого растения обнаружен в 5 раз меньше чем в корнях.

В отношении характера накопления и распределения цинка Zn в опытных растениях - в контрольном варианте и при низком загрязнении почвы растения накапливают больше цинка в надземных органах, чем в корнях (таблицы 8 и 9). Максимальные абсолютные показатели содержания цинка как в надземных органах, так и в корнях, отмечены у растений герань - 820,7 и 1118,5 мг/кг воздушно-сухой массы соответственно. С увеличением уровня загрязнения почвы последовательно возрастает содержание кадмия Cd и цинка Zn в биомассе растений. Причем в контрольном варианте и варианте с низким уровнем загрязнения герань амарант накапливает цинка в корнях больше, чем в надземной массе. Во всех остальных вариантах содержание данного металла в надземной части больше, чем в корнях в 1,02-2,27 раз. Что касается кадмия, то накопление этого металла в биомассе герани амаранта не велико во всех вариантах и локализуется он преимущественно в корнях. Что касается петунии львиного зева, то цинк они накапливает в меньшей степени, чем герань амарант и данный металл локализуется преимущественно в корневой части. Похожая закономерность наблюдается и при накоплении Cd в биомассе петунии львиного зева.

3.4 Расчет коэффициента биологического поглощения и транслокационных коэффициентов

На основе данных по содержанию тяжелых металлов в почве и растениях нами были подсчитаны следующие показатели:

коэффициент биологического поглощения (КБП) - соотношение содержания элемента в надземной части к его валовому содержанию в почве:

$$\text{КБП} = C_p / C_{\text{п}} \quad (3.1),$$

где: Ср - содержание элемент в золе растений (надземной части),

Сп - содержание элемент в почве.

Таблица 10

Коэффициенты биологического поглощения Cd геранью

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла в почве, мг/кг	Содержание тяжелого металла в растении, мг/кг	КПБ
Группа 1	0,59	0,23	0,4
Группа 2	2	8,2	4,1
Группа 3	5	20,1	4,0
Группа 4	7,2	10,18	1,4

Таблица 11

Коэффициенты биологического поглощения Pb геранью

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла в почве, мг/кг	Содержание тяжелого металла в растении, мг/кг	КПБ
Группа 1	7,9	1,74	0,2
Группа 2	120,2	4,01	0,0
Группа 3	100,3	5,2	0,1
Группа 4	152,8	6,4	0,0

Таблица 12

Коэффициенты биологического поглощения Zn геранью

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла в почве, мг/кг	Содержание тяжелого металла в растении, мг/кг	КПБ
---------------	--	---	-----

Группа 1	21,0	22	1,0
Группа 2	30,8	340,27	11,0
Группа 3	56,2	178,58	3,2
Группа 4	88,1	800,1	9,1

Таблица 13

Коэффициенты биологического поглощения Cd петунией

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла в почве, мг/кг	Содержание тяжелого металла в растении, мг/кг	КПБ
Группа 1	0,59	0,11	0,2
Группа 2	2	1,29	0,6
Группа 3	5	2,48	0,5
Группа 4	7,2	100	13,9

Таблица 14

Коэффициенты биологического поглощения Pb петунией

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла в почве, мг/кг	Содержание тяжелого металла в растении, мг/кг	КПБ
Группа 1	7,9	2,13	0,3
Группа 2	120,2	4,61	0,0
Группа 3	100,3	12	0,1
Группа 4	152,8	12	0,1

Таблица 15

Коэффициенты биологического поглощения Zn петунией

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла в почве, мг/кг	Содержание тяжелого металла в растении, мг/кг	КПБ
Группа 1	21,0	39,62	1,9
Группа 2	30,8	171	5,6
Группа 3	56,2	160,77	2,9
Группа 4	88,1	592,67	6,7

Транслокационный коэффициент (ТК) - соотношение содержания элемента в надземной части к содержанию в корнях:

$$TK = C_p / C_k \quad (3.2),$$

где: C_p - содержание элемент в золе растений (надземной части),

C_k - содержание элемент в корне.

Таблица 16

Транслокационные коэффициенты герани по отношению к кадмию

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла наземной части, мг/кг	Содержание тяжелого металла в корнях, мг/кг	ТК
Группа 1	0,23	1,61	0,1
Группа 2	8,2	20,14	0,4
Группа 3	20,1	30,85	0,7
Группа 4	10,18	69,22	0,1

Таблица 17

Транслокационные коэффициенты герани по отношению к свинцу

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла наземной части, мг/кг	Содержание тяжелого металла в корнях, мг/кг	ТК
Группа 1	1,74	1,79	1,0
Группа 2	4,01	50,0	0,1
Группа 3	5,2	10,11	0,5
Группа 4	6,4	30,3	0,2

Таблица 18

Транслокационные коэффициенты герани по отношению к цинку

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла наземной части, мг/кг	Содержание тяжелого металла в корнях, мг/кг	ТК
Группа 1	22	24,51	0,9
Группа 2	340,27	1008,42	0,3
Группа 3	178,58	95,73	1,9
Группа 4	800,1	499,99	1,6

Таблица 19

Транслокационные коэффициенты петунии по отношению к кадмию

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла наземной части, мг/кг	Содержание тяжелого металла в корнях, мг/кг	ТК
Группа 1	0,11	2,0	0,1
Группа 2	1,29	12,41	0,1
Группа 3	2,48	26,0	0,1
Группа 4	100,0	68,11	1,5

Таблица 20

Транслокационные коэффициенты петунии по отношению к свинцу

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла	Содержание тяжелого	ТК
---------------	-----------------------------	---------------------	----

	наземной части, мг/кг	металла в корнях, мг/кг	
Группа 1	2,13	1,0	2,1
Группа 2	4,61	5,4	0,9
Группа 3	12,0	6,11	2,0
Группа 4	12,0	8,2	1,5

Таблица 21

Транслокационные коэффициенты петунии по отношению к цинку

Вариант опыта	Содержание тяжелого металла наземной части, мг/кг	Содержание тяжелого металла в корнях, мг/кг	ТК
Группа 1	39,62	39,12	1,0
Группа 2	171,0	362,8	0,5
Группа 3	160,77	179,39	0,9
Группа 4	592,67	379,96	1,6

Очевидно, что растения, у которых транслокационный коэффициент и, в особенности, коэффициент биологического поглощения меньше 1 не подходят для использования в целях фиторемедиации.

Из таблиц 13 и 16 видно, что и транслокационные коэффициенты и коэффициенты биологического поглощения, установленные для герани и петунии по отношению к свинцу Pb практически во всех вариантах составляют меньше единицы. Данные показатели говорят о невозможности использования исследуемых растений для ремедиации почв, загрязненных свинцом Рис 1 – 3.

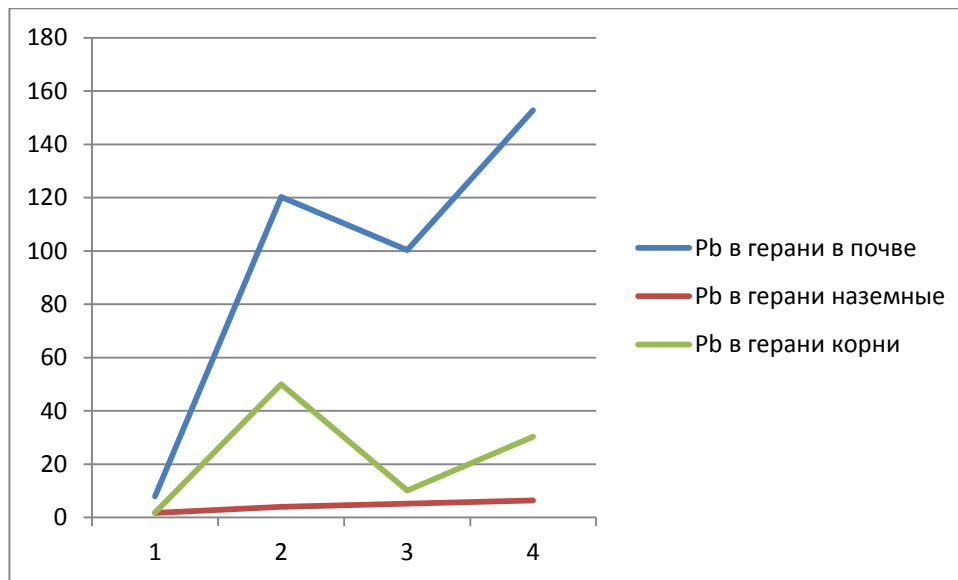


Рис. 1 Содержание свинца в почве, наземной части и корнях герани.

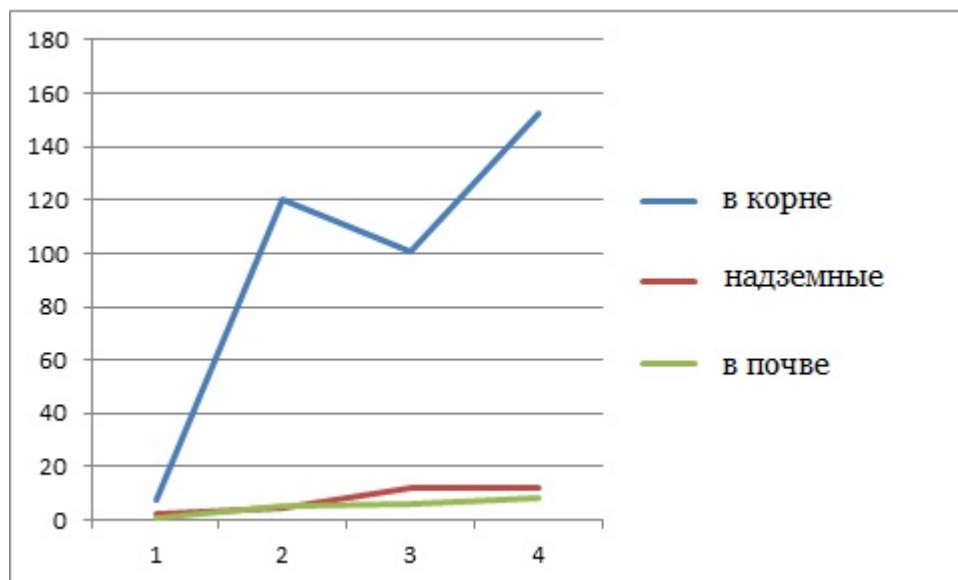


Рис. 2 Содержание свинца в почве, надземной части и корнях петунии.

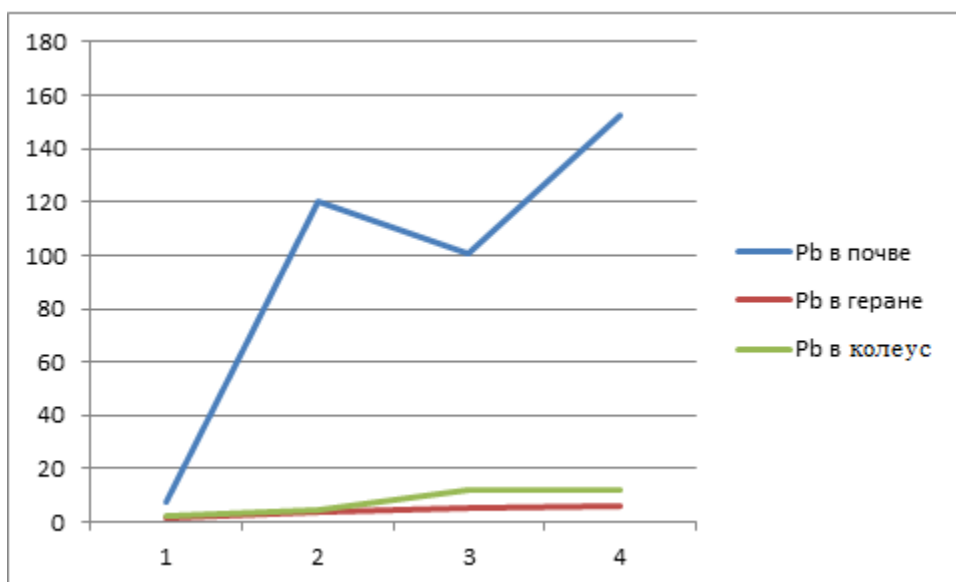


Рис. 3 Содержание свинца в почве и надземной опытных растений.

Для герани и петунии коэффициенты биологического поглощения и транслокационные коэффициенты больше единицы (КБП 11 и 6,7 для герани и петунии соответственно и ТК 1,9 и 1,6 для герани и петунии соответственно) были установлены по отношению к цинку, что говорит о способности к накоплению данного металла в биомассе исследуемого растения.

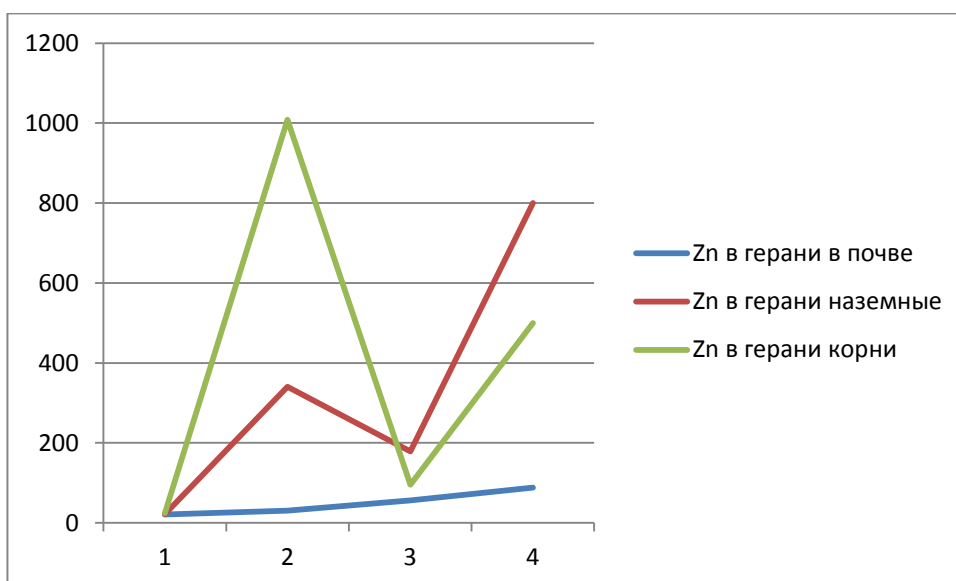


Рис. 4 Содержание цинка в почве, наземной части и корнях герани.

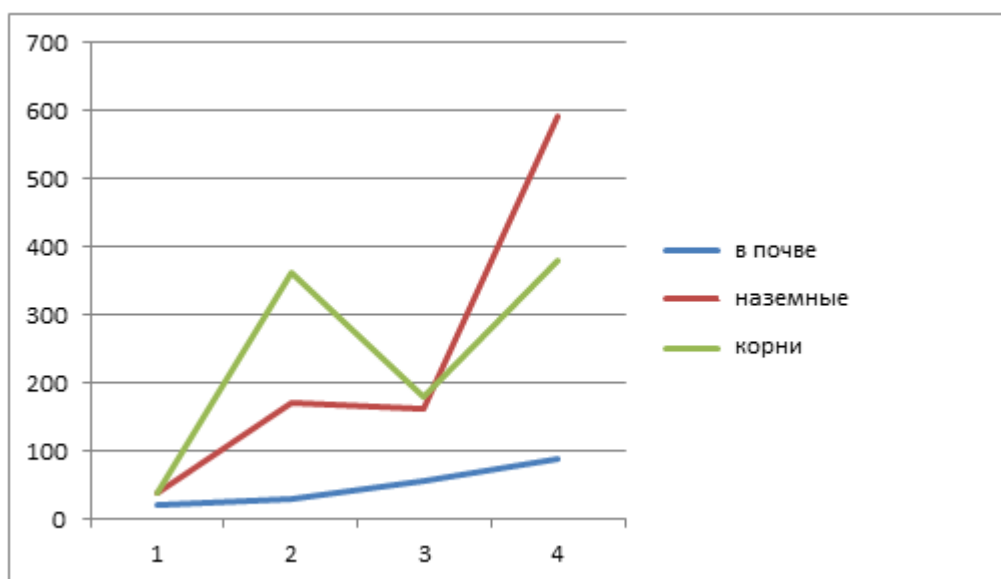


Рис. 5 Содержание свинца в почве, наземной части и корнях петунии.

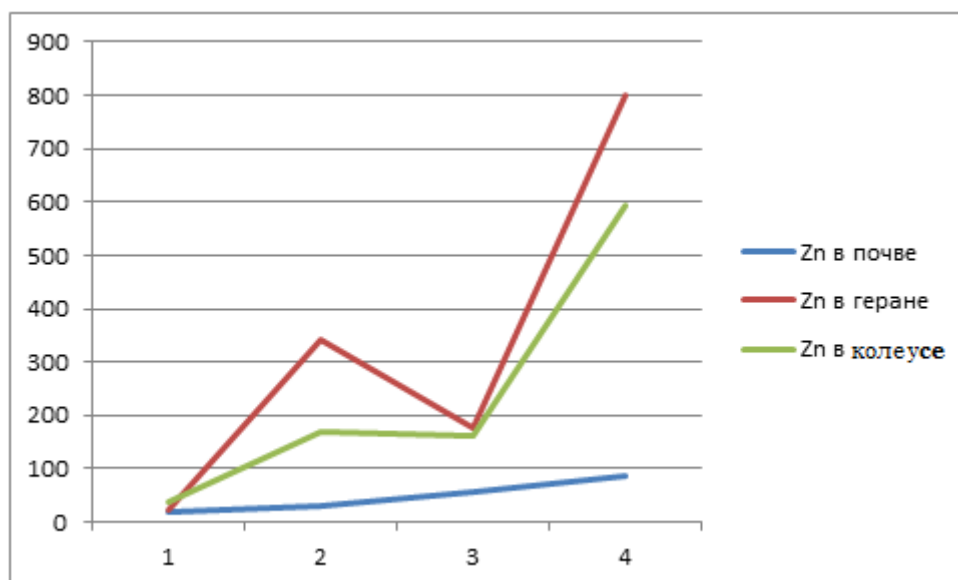


Рис. 6 Содержание цинка в почве и наземной опытных растений.

Что касается петунии, то данное растение проявило способность к накоплению и транслокации из корней в надземные органы кадмия, при высокой концентрации токсиканта в почве, так КБП 13,9 и ТК 1,5. Возможно,

объяснить этот эффект можно, что биодоступности кадмия, мешает присутствие других элементов, возможно цинка и свинца, в данной работе это не исследовалось.

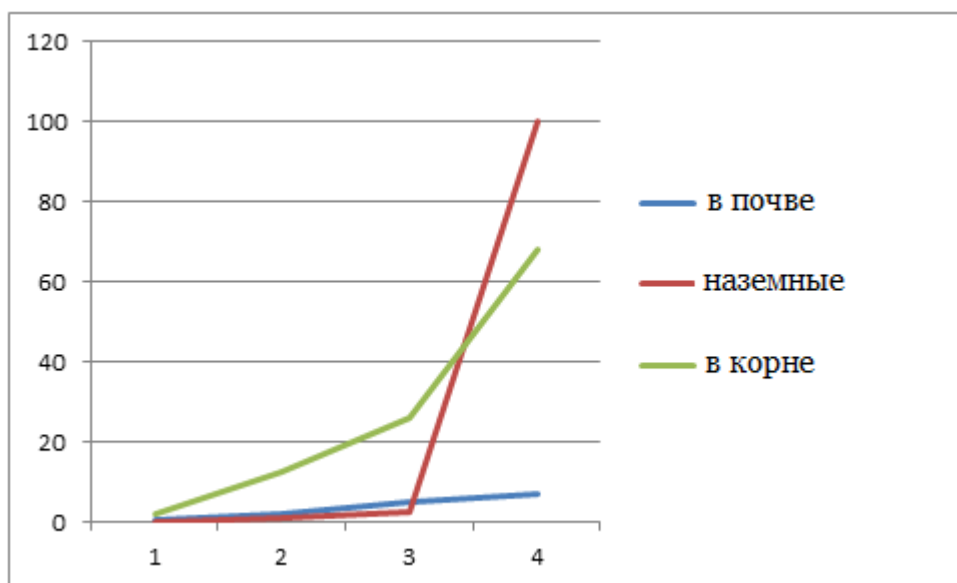


Рис. 7 Содержание кадмия в почве, наземной части и корнях петунии.

Таким образом, полученные данные по содержанию тяжелых металлов в биомассе герани и петунии свидетельствуют, что ни одно из них не является гипераккумулятором в отношении изученных металлов. Однако некоторые из экспериментальных растений в отношении определенного металла и определенном уровне загрязнения показали выраженную способность к накоплению и/или способность к их транслокации из корней в надземные органы. Таковыми являются герань и петуния по отношению к кадмию Cd и цинку Zn при определенном уровне загрязнения этими металлами. Что касается транслокационных коэффициентов для герани и петунии по отношению к цинку Zn, то для герани они составляют больше единицы при среднем и высоком уровне загрязнения ($TK=1,9$ и $1,6$), данные растения не эффективны для фиторемедиации почв, загрязненных цинком, при среднем и высоком уровне загрязнения. Транслокационные коэффициенты герани петунии по отношению к цинку - $1,6$ что говорит о

запуске защитной функции корней, которые аккумулируют большую часть поступившего в них элемента. Исходя из этого, можно сделать вывод, что петуния не подходит для фиторемедиации почв, загрязненных цинком.

Транслокационные коэффициенты, полученные во время проведения опыта с растениями комплексного загрязнения почвы кадмием, цинком и свинцом показали что, ни герань, ни петуния не накапливают эффективно эти металлы в надземной части при низком уровне загрязнения почвы (ТК меньше 1). Полученные результаты говорят о том, что ни герань, ни петунию нельзя использовать для фиторемедиации почв, загрязненных этим металлом в концентрациях ниже среднего.

Принимая во внимание значения обоих рассчитанных коэффициентов биодоступности и транслокации, можно сделать вывод о том, что при определенном фиторемедиационном потенциалом по отношению к кадмию в высокой концентраций в почве обладают растения петуния, по отношению к цинку – оба растения и по отношению к свинцу – петуния при высоком уровне загрязнения.

Физическая культура на производстве.

Физическая культура на производстве является главным фактором ускорения научно-технического прогресса и производительности труда. Поэтому выпускник Казанского ГАУ, который освоил программы бакалавриата, должен уметь использовать методы и средства физической культуры для того, чтобы обеспечить полноценную социальную и профессиональную деятельность.

На основе физической культуры лежат физические упражнения, с помощью которых индивид всесторонне совершенствует себя. Происходит развитие его двигательных качеств, умений и навыков, которые необходимы для профессиональной деятельности. Для этого используют следующие способы и методы. Направленные на развитие физических способностей:

- ударные дозированные движения в вынужденных позах;
- выработка вращательных движений пальцев и кистей рук;
- развитие статической и динамической выносливости мышц пальцев и кистей рук;
- развитие ручной ловкости, кожной и мышечно-суставной чувствительности, глазомера;
- развитие силы и статической выносливости позных мышц спины, живота и разгибателей бедра;
- развитие точности усилий мышцами плечевого пояса.

В занятия по физической культуре на производстве следует включать различные виды спорта, так как это способствует сохранению здоровья индивидуума, его психического благополучия и совершенствуются физические способности. Творческое использование физкультурно-спортивной деятельности в этих условиях направлено на достижение жизненно-важных и профессиональных целей индивидуума.

Техника безопасности при работе в теплице

При обработке площадей вручную: располагаться друг от друга на расстоянии не ближе 3-х метров; при работе мотыгой постоянно контролировать расстояние до строения теплицы, электросветильников и т.д. При работе машин с навесным оборудованием не разрешается: находиться ближе 5 м от движущейся машины; разворачивать машину при заглубленном рабочем органе; сходить (не садиться) на машину во время ее движения, регулировать рабочие органы, находиться под навесным оборудованием; при механизированном поливе площадей осуществлять иные виды работ. Для удержания поднятых рам в парниках и теплицах применять подставки, рамы

должны иметь ручки для их подъема. При очистке рам от снега применять специальные трапы. При обслуживании теплиц с электрообогревом необходимо: перед включением электрообогревателей в сеть убедиться в отсутствии людей на участке; участок оградить предупредительными знаками на расстоянии 5 м от его границ; ремонтные работы выполнять только отключив электросеть, на рубильнике вывесить аншлаг "Не включать - работают люди!". При использовании минеральных удобрений, пестицидов: вскрывая тару с пестицидами, проявлять особую осторожность, освобожденная бумажная и деревянная тара немедленно сжигается, металлическая возвращается на склад; при работе проявлять особую осторожность, не снимать средств защиты, не касаться руками лица; не курить и не принимать пищу, это допустимо только во время отдыха, в специально отведенном месте; в случае попадания на тело пестицидов удалить их тампоном (ватой), это место промыть холодной водой или слабым раствором щелочи; в случае ухудшения самочувствия прекратить работу, сообщить мастеру (бригадиру), обратиться за медицинской помощью; не допускать присутствия посторонних людей.

ВЫВОДЫ

Исследован и проанализирован фиторемедиационный потенциал герани и петунии на серой-лесной среднесуглинистой почве, при искусственным загрязнением почвы тяжелыми металлами (кадмием, свинцом и цинком) в условиях лабораторного опыта. Согласно полученным экспериментальным данным и расчетным коэффициентам биодоступности и транслокации, был сделан вывод о том, что растения герань и петуния в условиях высокого уровня загрязнения почвы тяжелыми металлами обладают наибольшей способностью к накоплению и перемещению в надземные органы кадмия Cd и цинка Zn.

Содержание валовых и подвижных форм тяжелых металлов в почве последовательно возрастало с увеличением дозы внесенных металлов, однако линейной зависимости между внесенным и определенным количеством тяжелых металлов не наблюдалось, что можно объяснить неоднозначностью их поведения в почве.

Полученные данные по содержанию трех тяжелых металлов (Cd, Pb и Zn) в биомассе растений герань и петуния свидетельствуют, что ни одно из них не является гипераккумулятором в отношении изученных металлов.

Однако и герань и петуния показали способность к накоплению цинка Zn, КБП – 11 и 9, КТ – 1,9 и 1,6 соответственно у герани и петунии. Способность к накоплению кадмия Cd, КБП – 13,9 и 4, КТ – 1,5 выявлена у петунии.

Биодоступность кадмия Cd для петунии при низком и среднем уровне загрязнения меньше 1, а при высокой концентрации элемента в почве показал биодоступность на уровне 13,9. Наибольшей способностью к накоплению и перемещению в надземные органы кадмия Cd наблюдается при высоком уровнях загрязнения (транслокационный коэффициент 1,5 при высоком уровне загрязнения).

Наибольшим потенциалом по накоплению и перемещению цинка Zn из корней в надземную часть при высоком уровне загрязнения почвы обладают из изученных растение обладает герань. Транслокационный коэффициент 1,9 и коэффициент биологического поглощения 9.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследован и проанализирован фиторемедиационный потенциал герани и петунии на серой-лесной среднесуглинистой почве, при искусственном загрязнении почвы тяжелыми металлами (кадмием, свинцом и цинком) в условиях лабораторного опыта. Отмечено, содержание валовых и подвижных форм тяжелых металлов в почве, после кратного внесения солей тяжелых металлов в опытные образцы почвы последовательно возрастало с увеличением дозы внесенных металлов. Линейной зависимости между внесенным и определенным количеством тяжелых металлов не обнаружено. Анализ экспериментальных данных, позволяет утверждать, что изученные виды растений не относятся к гипераккумуляторам по отношению к вышеуказанным элементам. При этом отмечена способность накапливать тяжелые металлы и переносить их от корней к наземным органам при некоторых уровнях загрязнения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Агроэкология. Методология, технология, экономика. / Под ред. В.А. Черникова, И.Г. Грингофа, В.Т. Емцева. — М.: Колос, 2004. — 400 с.
- 2 Александрова А. Б. Фоновое содержание тяжелых металлов в серых лесных почвах Республики Татарстан / А. Б. Александрова, Д. В. Иванов, В. И. Кулагина, Б. Р. Григорьян, В. В. Маланин // Эколого - географические проблемы регионов России : материалы V Всероссийской научно -практической конференции, посвященной 85 - летию естественно -географического факультета ПГСГА. – Самара : ПГСГА, 2014. – С. 44 –50. 7.
- 3 Аконов, Э.И. О круговороте тяжелых металлов в биосфере / Э.И. Аконов, О.Л. Ивашевская, В.П. Корженко // Биохимические циклы в биосфере. — М.: Наука, 2015.-С. 272-284.
- 4 Алексеев, Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев. М., 1992.-200 с.
- 5 Алексеенко, В.А. Цинк и кадмий в окружающей среде / В.А. Алексеенко,Л.В. Алещук, Л.Е. Безналько. — М: Наука, 1992. — 197 с.
- 6 АликаевВ.А. Зоогигиена / В.А. Аликаев. — М.: Колос, 1970. — С. 41-48.

- 7 Андриевская, Л.П. Накопление тяжелых металлов в агроландшафтах Нижнего Поволжья / Л.П. Андриевская // Основы достижения устойчивого развития сельского хозяйства. — Мат. междунар. научно-практ. конф. — Волгоград, ВГСХА, 2004. С. 107-109.
- 8 Андреюк Е.И. Почвенные микроорганизмы и интенсивное землепользование./ Е.И.Андреюк, Г.А Путинская, А.Н Дульгеров. — Киев: Наукова думка, 1988. — 192с.
- 9 Вернадский В. И. Химические элементы, их классификация и формы их нахождения в земной коре./ В.И.Вернадский — Избр. соч. Т. 1. - М., 1954. — С. 32-60.
- 10 Вернадский В. И. Труды по биогеохимии и биохимии почв./ В.И.Вернадский. М.: Наука, 1992. - 437 с.
- 11 Вильяме В.Р. Собрание сочинений. /В.Р. Вильяме. — Гос. изд-во с.-х. литературы, 1951. Т.7 - С. 29,315.
- 12 Виноградов А. П. Основные закономерности в распределении микроэлементов между растениями* и средой / А.П. Виноградов // Микроэлементы в жизни растений и животных. М., 1952. — С. 7-20.
- 13 Горчаковский П.Л. Тенденция антропогенных изменений растительного покрова земли / П.Л. Горчаковский // Ботанический журнал. — 1979. — Т. 64. — № 12.-С. 197-214.117
- 14 Громова В.С. Миграция и накопление Cs и ТМ в почве и растениях в условиях* расчлененного рельефа / В.С.Громова, М.И. Лунёв // Плодородие. -2017. — №4. — С.38-
- 15 Кузнецов М. С. Эрозия и охрана почв. / М.С.Кузнецов, Г.П Глазунов. — М.: МГУ, 2013.-335 с.
- 16 Лукашев К.И. Химические элементы в почвах. / К.И.Лукашев, Н.Н. Петухова. — Минск: Наука и техника, 2012. 233 с.
- 17 Методические и организационные основы проведения агроэкологического мониторинга в интенсивном земледелии (на базе Географической сети опытов).
- 18 Методические указания. Методика выполнения измерений массовой доли кислоторастворимых форм металлов (Сu, Pb, Zn, Ni, Cd) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом. РД 52.18.191-89.
- 19 Методика выполнения измерений-валового содержания меди, кадмия, цинка, свинца, никеля и марганца в почвах, донных отложениях и осадкахсточных вод методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии. ПНДФ 16.1:2.2:2.3.36-2002.
- 20 Микроорганизмы и охрана почв. / Под ред. Д.Г. Звягинцева. — М.: «МГУ», 1991-С. 3-24.
- 21 2. Панин М.С. Аккумуляция тяжелых металлов растениями Семипалатинского полигона / М.С. Панин. — Семипалатинск, 2010. 308

с.

- 22 ПДК • химических веществ в почвах и допустимые уровни их содержания по 1 показателям вредности.— М., Госкомприрода СССР, № 022333 от 10.12.90.
- 23 РД 52.18.191-89 Методические указания. Методика выполнения измерений массовой доли кислоторастворимых форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом.
- 24 Arriagada C, Pereira G, García-Romera I, Ocampo JA (2010). Improved zinc tolerance in *Eucalyptus globulus* inoculated with *Glomus deserticola* and *Trametes versicolor* or *Coriolopsis rigida*. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 118-1124.
- 25 Balestrazzi A, Botti S, Zelasco S, Biondi S, Franchin C, Calligari P, et al. (2009). . Expression of the PsMTA1 gene in white poplar engineered with the MAT system is associated with heavy metal tolerance and protection against 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated-DNA damage. *Plant Cell Reports* 28: 1179-1192.
- 26 Dix ME, Klopfenstein NB, Zhang JW, Workman SW, Kim MS (1997). Potential use of *Populus* for phytoremediation of environmental pollution in riparian zones. In: "Micropropagation, genetic engineering, and molecular biology of *Populus*" (Klopfenstein NB, Chun YW, Kim MS, Ahuja MR eds). Gen. Tech. Rep. RM-GTR-297, USDA Forest Service, pp. 206-211.
- 27 Lingua G, Franchin C, Todeschini V, Castiglione S, Biondi S, Burlando B, et al. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones. *Environmental Pollution* 153: 147-157.
- 28 Marmiroli N, Marmiroli M, Maestri E (2006). Phytoremediation and phytotechnologies: a review for the present and the future. In: "Soil and water pollution monitoring, protection and remediation" (Twardowska I et al. eds). Springer, The Netherlands, pp. 3-23.
- 29 Rathinasabapathi B, Wu S, Sundaram S, Rivoal J, Srivastava M, Ma LQ (2006). Arsenic resistance in *Pteris vittata* L.: identification of a cytosolic triosephosphate isomerase based on cDNA expression cloning in *Escherichia coli*. *Plant Molecular Biology* 62: 845-857.
- 30 Rugh CL, Wilde D, Stack NM, Thompson DM, Summers AO, Meagher RB (1996). Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proceedings of the National Academy of Science* 93: 3182-3187.
- 31 Trotta A, Falaschi P, Cornara L, Minganti V, Fusconi A, Drava G, Berta G (2006). Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L. *Chemosphere* 65: 74-81.

- 28 Unterbrunner R, Puschenreiter M, Sommer P, Wieshammer G, Tlustos P, Zupan M, et al. (2007). Heavy metal accumulation in tree growing on contaminated sites in Central Europe. *Environmental Pollution* 148: 107-114.
- 29 Van Aken B, Yoon JM, Schnoor JL (2004b). Biodegradation of nitro-substituted explosives 2,4,6-trinitrotoluene, hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine, and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5-tetrazocine by a phytosymbiotic *Methylobacterium* sp. associated with poplar tissues (*Populus deltoides* × *nigra* DN34). *Applied and Environmental Microbiology* 70: 508-517.
- 30 Witters N, Van Slycken S, Ruttens A, Adriaensen K, Meers E, Meiresonne L, et al. (2009). Short-rotation coppice of willow for phytoremediation of a metal-contaminated agricultural area: a sustainability assessment. *BioEnergy Research* 2 (3): 144-152.
- 31 Wieshammer G, Unterbrunner R, Garcia TB, Zivkovic MF, Puschenreiter M, Wenzel WW (2007). Phytoextraction of Cd and Zn from agricultural soils by *Salix* spp. and intercropping of *Salix caprea* and *Arabidopsis halleri*. *Plant and Soil* 298: 255-264.