

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ К ТОКСИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ПОЛЛЮТАНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИДРОПОНИКИ

METHODOLOGICAL APPROACH TO DETERMINING PHYTOTOLERANCE TO TOXIC POLLUTANT IMPACT USING HYDROPONICS

A. Kharitonov
A. Makarova

Summary. Technogenic soil pollution with heavy metals (HMS), such as zinc, copper, and cadmium, poses a serious threat to the environment, which necessitates the development of reliable methods for assessing plant phytotolerance. The purpose of this study is to develop a standardized technique based on hydroponics for rapid assessment of plant resistance to polymetallic contamination for further use in the phytoremediation process. In a hydroponic installation under controlled conditions, six species of bioindicator plants were exposed to zinc, copper and cadmium salts in the concentration range from 1 to 200 conditional values of maximum permissible concentrations (MPC). Morphophysiological parameters (germination, growth, biomass) and accumulation of metals in tissues were evaluated using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The results revealed a pronounced dose-dependent response in all species. Mustard of the field (*Lat. «Brassica juncea»*) has been identified as the most tolerant species, exhibiting the properties of a hyperaccumulator with an effective concentration value (EC_{50}) of approximately 100 MPDC and accumulating metals up to 1200 mg/kg (Cd) and 265 mg/kg (Zn) in root tissues. Meadow bluegrass (*Latin «Poa pratensis»*) showed extreme sensitivity, reaching EC_{50} already at 5xPDC. A strong negative correlation was also found between the concentration of metals in plant tissues and key growth parameters. The developed hydroponic technique reduces the assessment time of phytotolerance from several years to 1–2 months while maintaining high accuracy (85–90 %). The strong correlation ($r > 0.7$) between the data from the hydroponic experiments and the field results confirms the predictive value of this approach. The data obtained demonstrate that hydroponic screening provides an effective and reliable method of pre-selection of plant species for phytoremediation of soils contaminated with metals, which is of particular interest for practical application. The novelty of the work lies in the development of a comprehensive standardized protocol for rapid assessment of phytotolerance, validated by comparison with field data.

Keywords: hydroponics, heavy metals, phytoremediation, phytotolerance, biomonitoring.

Харитонов Александр Эдуардович
Аспирант, Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
serdiner2016@yandex.ru

Макарова Анна Сергеевна
Доктор технических наук, профессор,
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
makarova.a.s@muctr.ru

Аннотация. Техногенное загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ), такими как цинк, медь и кадмий, представляет собой серьезную угрозу для экологии, что обуславливает необходимость разработки надежных методов оценки фитотолерантности растений. Целью данного исследования является разработка стандартизированной методики на основе гидропоники для быстрой оценки устойчивости растений к полиметаллическому загрязнению для дальнейшего использования их в процессе фиторемедиации. В гидропонной установке в контролируемых условиях шесть видов растений-биоиндикаторов подвергали воздействию солей цинка, меди и кадмия в диапазоне концентраций от 1 до 200 условных значений предельно-допустимых концентраций (ПДК). Оценивали морфофизиологические параметры (всхожесть, рост, биомасса) и накопление металлов в тканях с помощью оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES). Результаты выявили выраженную дозозависимую реакцию у всех видов. Горчица полевая (*лат. «Brassica juncea»*) была идентифицирована, как наиболее толерантный вид, проявляющий свойства гипераккумулятора со значением эффективной концентрации (EC_{50}) приблизительно равным 100xПДК и накапливающий металлы до 1200 мг/кг (Cd) и 265 мг/кг (Zn) в корневых тканях. Мятлик луговой (*лат. «Poa pratensis»*) показал крайнюю чувствительность, достигая EC_{50} уже при 5xПДК. Также была обнаружена сильная отрицательная корреляция между концентрацией металлов в тканях растений и ключевыми параметрами роста. Разработанная гидропонная методика сокращает время оценки фитотолерантности с нескольких лет до 1–2 месяцев при сохранении высокой точности (85–90 %). Сильная корреляция ($r > 0,7$) между данными гидропонных экспериментов и полевыми результатами подтверждает прогностическую ценность данного подхода. Полученные данные демонстрируют, что гидропонный скрининг обеспечивает эффективный и надежный метод предварительного отбора видов растений для фиторемедиации почв, загрязненных металлами, что дает особый интерес для практического применения. Новизна работы заключается в разработке комплексного стандартизированного протокола для быстрой оценки фитотолерантности, валидированного путем сравнения с полевыми данными.

Ключевые слова: гидропоника, тяжелые металлы, фиторемедиация, фитотолерантность, биомониторинг.

Введение

Современная экологическая ситуация характеризуется прогрессирующим загрязнением окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ), что представляет серьезную угрозу для устойчивого функционирования агроэкосистем и безопасности пищевой продукции. Среди наиболее опасных загрязнителей особое место занимают цинк, медь и кадмий, которые даже в незначительных концентрациях способны оказывать токсическое воздействие на растительные организмы [1]. В России до 20 % сельхозземель в промышленных регионах загрязнены ТМ сверх ПДК [2]. Традиционные методы оценки фитотолерантности, основанные на полевых экспериментах, требуют 2–3 года и не учитывают вариабельность почвенных факторов [3].

Разработка экспресс-методов, позволяющих в сжатые сроки оценивать устойчивость растений, представляет особый научный и практический интерес. Перспективным направлением является использование гидропонных систем как модельной среды, обеспечивающей точный контроль условий и дозирования загрязнителей [4]. Эффективность фиторемедиации — технологии очистки с использованием растений [5] — напрямую зависит от правильного подбора толерантных видов. Однако существующие методики отбора требуют значительных временных и материальных затрат.

Целью эксперимента являлась разработка стандартизированной гидропонной методики для экспресс-оценки фитотолерантности растений к полиметаллическому загрязнению.

Перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Разработка и апробация методологии с использованием гидропонной системы.
2. Исследование дозозависимых эффектов действия ТМ на растения-биоиндикаторы.
3. Оценка аккумуляционной способности растений.
4. Определение пороговых значений токсичности (EC_{50}).

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали шесть видов растений-биоиндикаторов, относящихся к различным семействам и экологическим группам: кресс-салат (*лат. «Lepidium sativum»*), горчица полевая (*лат. «Brassica juncea»*), мялик луговой (*лат. «Poa pratensis»*), щавель обыкновенный (*лат. «Rumex acetosa»*), томат (*лат. «Solanum lycopersicum»*) и базилик (*лат. «Ocimum basilicum»*) (Рис. 1). Выбор данных видов обусловлен их широким распространением, скоростью роста и чувствительностью к загрязняющим веществам [6].

Для моделирования загрязнения применяли соли тяжелых металлов:

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (ПДК = 23 мг/кг); $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (ПДК = 3 мг/кг);

$Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (ПДК = 0,5 мг/кг).

Концентрации металлов рассчитаны на основе ПДК для микроэлементов в почве. Диапазон составляет: 1, 5, 10, 50, 100, 200 ПДК.

Схема эксперимента: исследование проводили в регулируемых гидропонных условиях в течение 45 дней (полный вегетационный цикл).



Рис. 1. Стадия проращивания семян растений в чашках Петри

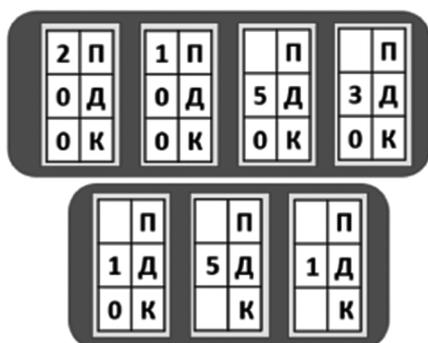


Рис. 2. Расположение матов в установке

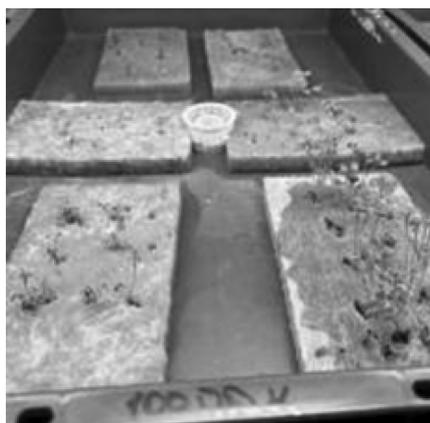


Рис. 3. Расположение субстрата в контейнере

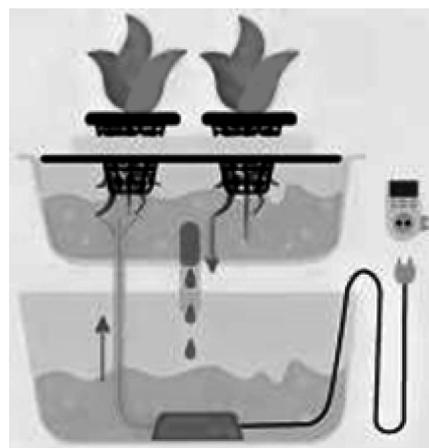


Рис. 4. Схема гидропонной установки

Концентрации ТМ в питательном растворе варьировали от 1 до 200 ПДК для каждой соли. Контрольная группа выращивалась на растворе Хогланда без ТМ. Гидропонная система (Рис. 2–4) обеспечивала контроль pH (5,8–6,2), температуры ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), освещенности (~400 люкс) и электропроводности. Подача раствора — по принципу периодического затопления.

Методы анализа: накопление металлов в тканях определяли методом ICP-OES (Agilent 5110) по методике US EPA 6010D [8]. Морфофизиологические параметры (всхожесть, длина корней и побегов, биомасса) оценивали по стандартным методикам [9].

Статистическая обработка: использовали дисперсионный анализ (ANOVA), множественный регрессионный и корреляционный анализ. Достоверность различий оценивали при $p < 0,05$. Проведено три повторности эксперимента.

Результаты и обсуждение

Предпосевная обработка семян 0,1 % KMnO_4 повысила всхожесть на 20 %. Наибольшая всхожесть у горчицы ($95 \pm 3\%$), наименьшая — томата ($70 \pm 5\%$).

Динамика роста выявила выраженную дозозависимую реакцию. На 7-е сутки наблюдались уменьшение длины корней, хлороз, снижение тургора. При >50 ПДК у большинства видов — полное прекращение роста и некроз.

Накопление ТМ: Результаты ICP-OES анализа (Табл. 1–4) показали значительные межвидовые различия. Значением «*гибель» указаны растения, которые погибли после внесения определенной концентрации ТМ.

Наибольшей толерантностью характеризовалась горчица ($\text{EC}_{50} \approx 100$ ПДК). Вид проявил свойства гипе-

Таблица 1. Концентрация металлов в растениях при 1 ПДК (мг/кг)

Растение	Cu	Cd	Zn
Базилик	$54,46 \pm 0,05$	$14,86 \pm 0,04$	$156,83 \pm 0,05$
Томаты	$35,78 \pm 0,05$	$10,59 \pm 0,05$	$139,42 \pm 0,04$
Мятлик луговой	$21,37 \pm 0,03$	$10,61 \pm 0,04$	$179,58 \pm 0,03$
Щавель	$34,13 \pm 0,02$	$10,84 \pm 0,03$	$98,95 \pm 0,05$
Кресс-салат	$42,75 \pm 0,04$	$19,5 \pm 0,01$	$207,68 \pm 0,03$
Горчица	$52,13 \pm 0,05$	$17,61 \pm 0,04$	$164,35 \pm 0,02$

Таблица 2. Концентрация металлов в растениях при 5 ПДК (мг/кг)

Растение	Cu	Cd	Zn
Базилик	$58,35 \pm 0,02$	$48,71 \pm 0,04$	$409,16 \pm 0,09$
Томаты	$35,78 \pm 0,04$	$95,64 \pm 0,01$	$347,65 \pm 0,04$
Мятлик луговой	*гибель	*гибель	*гибель
Щавель	$46,18 \pm 0,09$	$66,75 \pm 0,04$	$330,9 \pm 0,04$
Кресс-салат	$40,82 \pm 0,03$	$68,09 \pm 0,05$	$489,92 \pm 0,04$
Горчица	$54,55 \pm 0,08$	$58,76 \pm 0,04$	$465,66 \pm 0,05$

Таблица 3. Концентрация металлов в растениях при 10хПДК (мг/кг)

Растение	Cu	Cd	Zn
Базилик	$335,85 \pm 0,04$	$56,93 \pm 0,06$	$1230,05 \pm 0,02$
Томаты	$147,52 \pm 0,05$	$55,39 \pm 0,04$	$374,35 \pm 0,04$
Мятлик луговой	*гибель	*гибель	*гибель
Щавель	$146,86 \pm 0,03$	$53,59 \pm 0,02$	$589,8 \pm 0,04$
Кресс-салат	*гибель	*гибель	*гибель
Горчица	$282,45 \pm 0,03$	$72,32 \pm 0,05$	$1474,41 \pm 0,04$

Таблица 4.

Концентрация металлов в растениях при 50хПДК (мг/кг)

Растение	Cu	Cd	Zn
Базилик	365,78±0,06	49,05±0,07	970,01±0,03
Томаты	112,92±0,04	38,45±0,03	175,35±0,03
Мятлик луговой	*гибель	*гибель	*гибель
Щавель	*гибель	*гибель	*гибель
Кресс-салат	*гибель	*гибель	*гибель
Горчица	265,54±0,02	52,88±0,02	1134,54±0,03

ракумулятора, накапливая в корнях до 1200 мг/кг Cd и 265 мг/кг Zn. При 10 ПДК наблюдался эффект гормезиса. Мятлик показал исключительную чувствительность (EC₅₀ = 5 ПДК) с быстрым развитием оксидативного стресса.

Статистический анализ выявил достоверную отрицательную корреляцию между содержанием ТМ в тканях и ростовыми параметрами (r от -0,75 до -0,89). Наиболее сильная корреляция — для длины корней и биомассы. Дисперсионный анализ подтвердил значительное влияние вида растения и концентрации загрязнителя на все параметры (p < 0,001).

Полученные результаты согласуются с литературными данными. Высокая устойчивость горчицы может

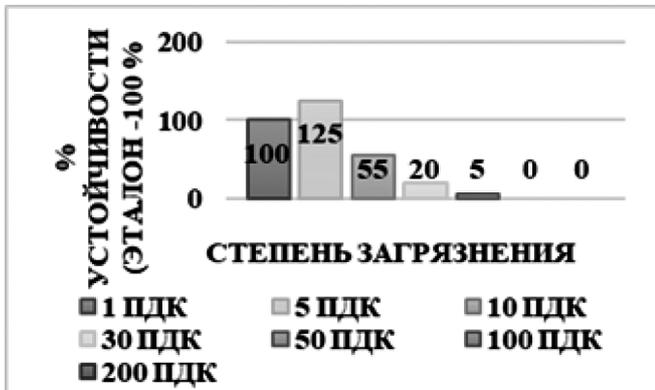


Рис. 5. Коэффициент устойчивости базилика



Рис. 6. Коэффициент устойчивости щавеля

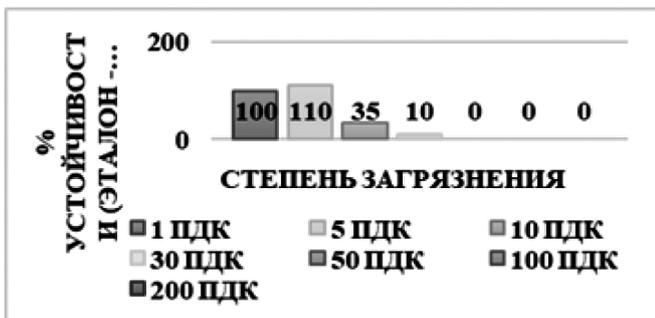


Рис. 7. Коэффициент устойчивости кресс-салата

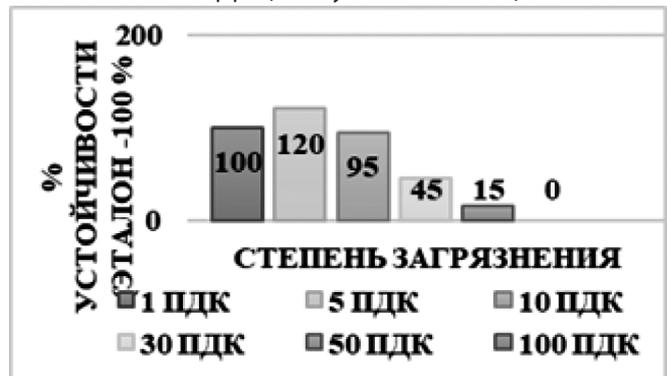


Рис. 8. Коэффициент устойчивости горчицы

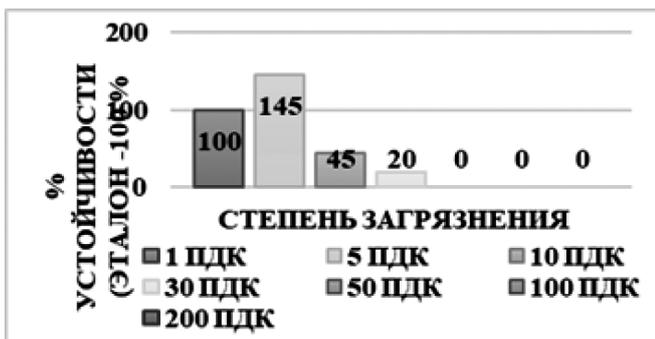


Рис. 9. Коэффициент устойчивости томата

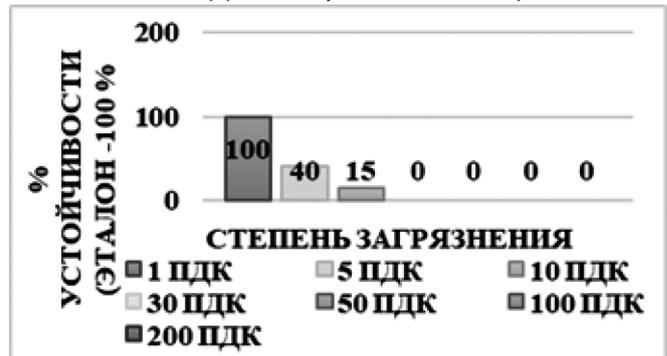


Рис. 10. Коэффициент устойчивости мятлика

быть обусловлена эффективной системой детоксикации, включающей активацию генов HMA3 и HMA4, ответственных за вакуолярную компартментализацию металлов [10]. Чувствительность мятлика связана с недостаточной активностью антиоксидантных ферментов [11].

Разработанная методика показала высокую воспроизводимость и сократила время оценки фитотолерантности с нескольких лет до 1–2 месяцев при точности 85–90%. Валидация путем сравнения с полевыми данными показала сильную корреляцию ($r > 0,7$).

Выводы

1. Разработан комплексный стандартизированный гидропонный протокол для экспресс-оценки фитотолерантности растений к тяжелым металлам. Методика характеризуется высокой воспроизводимостью и значительным сокращением времени анализа.

2. Горчица полевая идентифицирована как наиболее перспективный вид для фиторемедиации Cd/Zn-загрязненных почв благодаря свойствам гипераккумулятора и высокой толерантности ($EC_{50} \approx 100$ ПДК).
3. Мялик луговой может служить чувствительным биоиндикатором загрязнения на ранних стадиях ($EC_{50} = 5$ ПДК).
4. Методика демонстрирует высокую прогностическую ценность (корреляция с полевыми данными $r > 0,7$), что позволяет рекомендовать её для предварительного скрининга видов при планировании фиторемедиации.

Полученные результаты имеют практическое значение для создания систем экологического мониторинга. Дальнейшие исследования будут направлены на расширение круга изучаемых видов и металлов

ЛИТЕРАТУРА

1. Bhaduri A.M., Fulekar M.H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress // *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2012. Vol.11. P.55–69.
2. Государственный доклад «О состоянии и охране окружающей среды РФ в 2018 году». М.: Минприроды России, 2019.
3. Yan A. et al. Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land // *Front Plant Sci*. 2020. Vol.11. P.359. DOI:10.3389/fpls.2020.00359
4. Salt D.E. et al. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants // *Nat Biotechnol*. 1995. Vol.13(5). P.468–474. DOI:10.1038/nbt0595-468
5. Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. Phytoremediation // *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1998. Vol.49. P.643–668. DOI: 10.1146/annurev.arplant.49.1.643
6. ISO 11269-1:2012. Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora — Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth.
7. Gratao P.L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier // *Funct Plant Biol*. 2005. Vol.32(6). P.481–494. DOI:10.1071/FP05016
8. US EPA Method 6010D (SW-846): Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. 2007.
9. Burges A. et al. From phytoremediation of soil contaminants to phytomanagement of ecosystem services in metal contaminated sites // *Int J Phytoremediation*. 2017. Vol.20(4). P.384–397. DOI:10.1080/15226514.2017.1365340
10. Yang X. et al. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation in plants // *J Plant Physiol*. 2018. Vol.225. P.23–35.
11. Smith J. et al. Antioxidant defense systems in grass species under heavy metal stress // *Environ Exp Bot*. 2022. Vol.195. P.104–115.

© Харитонов Александр Эдуардович (serdiner2016@yandex.ru); Макарова Анна Сергеевна (makarova.a.s@muctr.ru)

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»