

УДК 631.45:631.81.095.337

## ВЛИЯНИЕ БОРНОЙ КИСЛОТЫ НА СПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ ПОГЛОЩАТЬ ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ

© 2012 г. Н. П. Чернобровкина\*, А. Ф. Титов\*\*, Е. В. Робонен\*, А. К. Морозов\*

\*Институт леса Карельского научного центра РАН  
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

e-mail: chernobrovkina@krc.karelia.ru

\*\*Институт биологии Карельского научного центра РАН  
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

Поступила в редакцию 08.10.2010 г.

Исследовано влияние борной кислоты на способность травянистых растений поглощать тяжелые металлы (ТМ). Установлено, что при низком содержании бора в супесчаной почве ( $0.0007 \text{ мг кг}^{-1}$  сухого вещества) борная кислота в дозах  $0.1\text{--}3.0 \text{ кг га}^{-1}$  стимулирует накопление определенных ТМ в надземной части исследованных видов растений из семейств сложноцветных (*Taraxacum officinale* Wigg.), злаковых (*Phleum pratense* L.) и бобовых (*Trifolium pratense* L.). В наибольшей степени это проявилось у растений одуванчика лекарственного (*T. officinale* Wigg.), что позволяет рассматривать данный вид как перспективный для фиторемедиации почв с низким содержанием бора при внесении его в определенных дозах.

**Ключевые слова:** *Taraxacum officinale* Wigg., *Phleum pratense* L., *Trifolium pratense* L., бор, тяжелые металлы, аккумуляция, фиторемедиация.

Постоянно возрастающее техногенное и антропогенное воздействие на окружающую среду привело к значительному загрязнению почв тяжелыми металлами (ТМ) во многих регионах мира, а их очистка от ТМ становится все более актуальной задачей. Она решается по-разному, но наиболее перспективными считаются способы биологической очистки почвы, основанные на способности отдельных растений накапливать в значительных количествах ТМ в побегах (Башмаков, Лукаткин, 2009). Так называемые растения-гипераккумуляторы накапливают металлы преимущественно в надземных органах и устойчивы к их высокому содержанию. К настоящему времени уже выявлено более 400 видов растений-сверхнакопителей, относящихся к 45 семействам. Однако большинство из них сравнительно небольшие по размерам и относительно медленно растут, что ограничивает их применение для широкомасштабной очистки загрязненных почв.

Для почв Северо-Запада европейской части России, стран Скандинавии, а также ряда других стран характерен дефицит микроэлемента бора вследствие того, что его соединения хорошо растворимы и легко вымываются из почвы (Wikner, 1983). Роль бора в растениях в настоящее время активно изучается. Выявлены его участие в структурной организации клеточной стенки (Kobayashi et al., 1996; O'Neill et al., 1996; Matsunaga, Ishii, 2004), а также влияние на транспорт ионов через

мембранны (Blaser-Grill et al. 1989; Ferrol, Donaire, 1992; Cakmak et al., 1995; Wang et al., 1999).

Цель данной работы – исследование влияния борной кислоты на способность ряда видов травянистых растений поглощать и накапливать ТМ.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на экспериментальных участках, расположенных в окрестностях г. Петрозаводска на территории, загрязненной Pb (1.5 ПДК почвы; ПДК принято по: “Санитарно-эпидемиологические...”, 2003), Zn (4.8), Cu (4.3), Ni (3.6) и одновременно с этим характеризующейся низким содержанием В ( $0.0007 \text{ мг кг}^{-1}$  сухого вещества). Химический анализ почвы проводили, используя общепринятые методы (Аринушкина, 1970). Почву засевали семенами растений семейства сложноцветных – одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.), злаковых – тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.) и бобовых – клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) из расчета 2.0 млн. шт.  $\text{га}^{-1}$ . В начале фазы формирования розетки листьев растения каждого вида делили на 5 групп, каждая из которых отличалась определенным уровнем обеспеченности бором: 1 – контроль (почва с естественным содержанием В  $0.0007 \text{ мг кг}^{-1}$ ); в вариантах 2–5 в почву (аналогичную контрольной) вносили борную кислоту в дозах  $0.1$ ;  $0.3$ ;  $1.0$ ;  $3.0 \text{ кг га}^{-1}$  соответственно. Когда

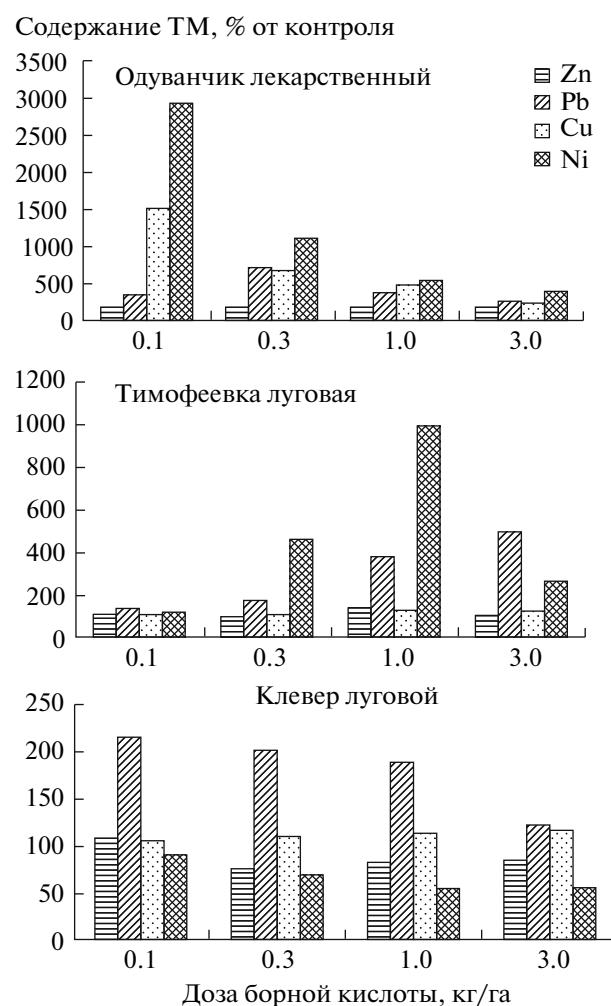
растения достигали наибольшей вегетативной массы (до формирования цветоносных побегов), их надземную часть срезали, взвешивали сухую массу и атомно-абсорбционным методом (Козлов и др., 2001) определяли в ней содержание ТМ. Поскольку использование одуванчика лекарственного в сочетании с борной кислотой привело к максимальному выносу металлов из почвы, для анализа содержания ТМ в ней после очистки и расчета количества укосов, необходимых для очистки почвы до уровня ПДК, использовали этот вид. На рисунке и в табл. 1–3 представлены средние значения трех биологических повторностей и их стандартные ошибки. Математическая обработка полученных данных проведена с использованием пакета программ Microsoft Excel. Достоверность различий между средними значениями в контроле и опыте оценивали с помощью критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало, что во всех вариантах опыта сухая масса надземной части растений была максимальной у одуванчика лекарственного и составляла  $154 \pm 13$  ц га $^{-1}$  против  $34 \pm 3$  ц га $^{-1}$  у тимофеевки луговой и  $26 \pm 2$  ц га $^{-1}$  у клевера лугового. Изученные виды также заметно различались по содержанию ТМ в надземной части растений (табл. 1): минимальное содержание металлов отмечено у тимофеевки, одуванчик отличался невысоким уровнем Pb, Cu и Ni и относительно высоким Zn, а у клевера выявлен повышенный уровень Ni и Zn. Интересно, что в надземной части всех исследованных растений содержание Zn значительно превышало уровень других ТМ. По-видимому, это обусловлено тем, что для данного элемента характерны наибольшие подвижность и масштабы биогенного поглощения (Федорова, Одинцева, 2005).

Внесение борной кислоты оказало существенное влияние на поглощение ТМ растениями (см. рисунок). При этом эффект от ее внесения зависел как от вида растений, так и от вносимой дозы. Так, у клевера в надземной части повышалось только содержание Pb, у тимофеевки в вариантах с борной кислотой в дозах 1.0–3.0 кг га $^{-1}$  количество Pb и Ni возросло в 4 и 9 раз соответственно. Наибольшее влияние борная кислота оказала на содержание ТМ у одуванчика. В частности, при использовании дозы 0.1 кг га $^{-1}$  уровень Ni и Cu в надземной части увеличился в 28 и 14 раз, а Zn – на 74%, Pb – в 6 раз при дозе 0.3 кг га $^{-1}$ .

Данные табл. 2 показывают, что клевер и тимофеевка в контроле и при всех дозах борной кислоты максимально выносят из почвы Zn. Вынос ими других металлов оказался значительно ниже. Максимальный вынос ТМ из почвы отмечен во всех вариантах опыта у одуванчика, причем ис-



Влияние борной кислоты на содержание ТМ в надземной части растений (в расчете на единицу сухого вещества).

пользование борной кислоты значительно его повышало (в 1.6–2.3 раза).

Таким образом, одуванчик лекарственный оказался наиболее эффективным из исследованных видов при очистке почвы от ТМ с применением борной кислоты. На наш взгляд, этот вид можно отнести к растениям-фиторемедиантам, которые не являются металлоспецифичными и

**Таблица 1.** Содержание ТМ в надземной части растений, мг кг $^{-1}$  сухого вещества

Металл	Одуванчик лекарственный	Тимофеевка луговая	Клевер луговой
Zn	$56.7 \pm 4.6$	$38.7 \pm 3.1$	$66.5 \pm 5.8$
Pb	$0.5 \pm 0.04$	$0.4 \pm 0.03$	$1.1 \pm 0.1$
Cu	$8.1 \pm 0.7$	$4.2 \pm 0.3$	$12.8 \pm 1.0$
Ni	$3.0 \pm 0.3$	$0.6 \pm 0.05$	$29.0 \pm 2.4$

**Таблица 2.** Влияние борной кислоты на вынос ТМ из почвы надземной частью растений, г га<sup>-1</sup>

Металл	Контроль	Доза борной кислоты, кг га <sup>-1</sup>			
		0.1	0.3	1.0	3.0
Одуванчик лекарственный					
Zn	873.2 ± 74.3	1527.7 ± 143.4	945.6 ± 88.6	976.4 ± 89.5	868.6 ± 80.4
Pb	7.1 ± 0.6	23.3 ± 2.1*	50.2 ± 4.4*	26.8 ± 2.3*	18.2 ± 1.7*
Cu	125.2 ± 11.5	1878.8 ± 179.8*	853.2 ± 79.3*	611.4 ± 57.9*	314.2 ± 29.1*
Ni	46.1 ± 3.9	1338.3 ± 126.5**	509.7 ± 48.4*	244.9 ± 23.0*	181.7 ± 17.5*
Клевер луговой					
Zn	171.6 ± 15.6	188.3 ± 17.2	132.9 ± 12.4	147.1 ± 13.9	149.9 ± 13.8
Pb	2.8 ± 0.2	6.0 ± 0.5*	5.7 ± 0.5*	5.3 ± 0.5*	3.5 ± 0.3
Cu	33.0 ± 3.0	35.4 ± 2.9	36.4 ± 3.0	38.2 ± 3.2	39.5 ± 3.4
Ni	74.8 ± 6.4	69.1 ± 6.0	53.2 ± 4.9	42.6 ± 3.8*	44.1 ± 4.1
Тимофеевка луговая					
Zn	127.0 ± 11.7	132.4 ± 12.7	129.4 ± 12.0	177.1 ± 16.7	132.4 ± 12.5
Pb	1.2 ± 0.1	1.6 ± 0.1	2.1 ± 0.2	4.6 ± 0.4*	6.0 ± 0.5*
Cu	14.0 ± 1.2	14.9 ± 1.3	14.4 ± 1.2	18.1 ± 1.5	18.0 ± 1.6
Ni	2.0 ± 0.2	2.3 ± 0.2	9.1 ± 0.8*	19.4 ± 1.6**	5.2 ± 0.4*

\* Различия с контролем достоверны при  $p \leq 0.05$ .

\*\* Различия с контролем достоверны при  $p \leq 0.01$ .

стратегия которых при их использовании для очистки почв от ТМ основана на способности формировать относительно большую надземную биомассу, хотя количество ТМ в ней сравнительно невелико (Прасад, 2003).

В результате очистки почвы одуванчиком в контроле (без внесения борной кислоты) уровень металлов снизился максимально – до 87% от исходного за один укос. В варианте с использованием борной кислоты содержание в почве отдельных ТМ снижалось за один укос до 74% от исходного уровня. Для очистки загрязненных почв от металлов до уровня ПДК с помощью одуванчика необходимо 6–9 укосов, а с применением борной кислоты достаточно 3–4 укосов (табл. 3). Учитывая, что этот вид характеризуется высокой интенсивностью роста, при благоприятных условиях

его можно скашивать 3–4 раза за один вегетационный сезон. Это означает, что в этом случае очистка почвы до уровня ПДК может происходить за одно лето.

Одним из механизмов, активизирующих вынос растениями ТМ из почвы при внесении борной кислоты, по-видимому, является участие бора в формировании комплексных соединений с производными полисахаридов – пектином и рамногалактуронаном-II в клеточной стенке (Kobayashi et al., 1996; O'Neill et al., 1996). В состав комплексов входят также ионы металлов –  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{La}^{3+}$  (Matsunaga, Ishii, 2004). Эти комплексы закрепляют поперечные переплетения структур клеточных стенок, таким образом стабилизируя их. Вполне вероятно также участие бора в формировании и функционировании клеточных мембран, в некоторых физиологических процессах. Например, бор, способствуя повышению уровня глутатиона в растительных клетках, стимулирует антиоксидантную реакцию растений в ответ на алюминиевый стресс (Ruiz et al., 2006). Он может быть вовлечен в процессы, связанные с регуляцией уровня мембранных потенциалов, с активацией связанных с плазмалеммой ферментов, в том числе АТФазы протонной помпы, с транспортом ионов через мембранны (Blaser-Grill et al., 1989; Ferrol, Donaire, 1992; Cakmak et al., 1995; Wang et al., 1999). Однако, несмотря на очевидное и быстрое влияние бора на функциональ-

**Таблица 3.** Влияние борной кислоты на количество укосов одуванчика лекарственного, необходимое для очистки почвы от ТМ до уровня ПДК

Металл	Количество укосов	
	в контроле	с борной кислотой
Zn	7	4
Pb	6	3
Cu	6	3
Ni	9	4

ную активность мембран, основные механизмы его действия пока не выяснены (Camacho-Cristobal et al., 2008).

Результаты нашего исследования позволяют рекомендовать борную кислоту для внесения в почву с низким содержанием бора под одуванчик лекарственный в целях стимуляции выноса этим растением металлов из почвы. Причем, используя различные дозы борной кислоты, можно стимулировать вынос растениями определенных ТМ. Важно, что данный способ позволяет сократить время, необходимое для очистки почв от ТМ, а почва при этом обогащается бором. Немаловажно и то обстоятельство, что борная кислота сравнительно недорого стоит и вносится в почву в относительно небольших дозах. Данный способ является экологически чистым, нетрудоемок и не требует значительных материальных затрат.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аринушкина С.В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. 487 с.
- Башмаков Д.И., Лукаткин А.С.* Эколо-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2009. 236 с.
- Козлов М.В., Кистерная М.В., Клеманский Ю.М., Ильинова М.К., Коржова М.А.* Аналитическое обеспечение мониторинга лесных экосистем // Биоэкологические аспекты мониторинга лесных экосистем Северо-Запада России. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2001. С. 278–285.
- Прасад М.Н.* Практическое использование растений для восстановления экосистем, загрязненных металлами // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 5. С. 768–780.
- Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы. СанПиН 2.1.7. 1287 – 03. 2003.
- Федорова Е.В., Одинцева Г.Я.* Биоаккумуляция металлов растительностью в пределах малого аэротехноген-

но загрязненного водосбора // Экология. 2005. № 1. С. 26–31.

*Blaser-Grill J., Knoppik D., Amberger A., Goldbach H.* Influence of boron on the membrane potential in *Elodea densa* and *Helianthus annuus* roots and H<sup>+</sup> extrusion of suspension cultured *Daucus carota* cells // Plant Physiol. 1989. V. 90. P. 280–284.

*Cakmak I., Kurz H., Marschner H.* Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower // Physiol. Plant. 1995. V. 95. P. 11–18.

*Camacho-Cristobal J.J., Herrera-Rodríguez M.B., Beato V.M.* et al. The expression of several cell wall-related genes in *Arabidopsis* roots is down-regulated under boron deficiency // Envir. Exp. Bot. 2008. V. 63. P. 351–358.

*Ferrol N., Donaire J.P.* Effect of boron on plasma membrane proton extrusion and redox activity in sunflower cells // Plant Sci. 1992. V. 86. P. 41–47.

*Kobayashi M., Matoh T., Junichi A.* Two chains of rhamnogalacturonan-2 are cross-linked by borate - diol ester bonds in higher plant cell wall // Plant Physiol. 1996. V. 110. P. 1017–1020.

*Matsunaga T., Ishii T.* Characterization of metal binding properties of rhamnogalacturonan II from plant cell walls by size-exclusion HPLC/ICP-MS // Anal. Sci. 2004. V. 20. P. 1389–1393.

*O'Neill M.A., Warrenfeltz D., Kates H.* et al. Rhamnogalacturonan II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester: In vitro conditions for the formation and hydrolysis of the dimer // J. of Biological chemistry. 1996. V. 271. № 37. P. 22923–22930.

*Ruiz J.M., Rivero R.M., Romero L.* Boron increases synthesis of glutathione in sunflower plants subjected to aluminum stress // Plant Soil. 2006. V. 279. P. 25–30.

*Wang Z.Y., Tang Y.L., Zhang F.S., Wang H.* Effect of boron and low temperature on membrane integrity of cucumber leaves // J. Plant Nutr. 1999. V. 22. P. 543–550.

*Wikner B.* Distribution and mobility of boron in forest ecosystems // Commun. Institution Forestalis Fenniae. 1983. № 116. P. 131–141.