

ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ АРБУСКУЛЯРНОЇ МІКОРИЗИ ДЛЯ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ ҐРУНТІВ, ЗАБРУДНЕНИХ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Ж.З. Гуральчук

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, *azhanna@ukr.net*

У статті наводяться дані про види рослин, здатні у значних кількостях накопичувати важкі метали. Висвітлюються деякі механізми стійкості мікоризного симбіозу до дії важких металів та перспективність використання арбускулярних мікоризних грибів з метою фітореємедіації забруднених ґрунтів.

Ключові слова: важкі метали, гіперакумулятори, фітореємедіація, мікориза, арбускулярні мікоризні гриби

Фітореємедіація ґрунтується на використанні рослин для вилучення або стабілізації небезпечних речовин з метою зменшення їх токсичності. Така технологія може бути застосована не лише для важких металів (ВМ), але й радіонуклідів [1], пестицидів; вона є низьковитратною, може бути впровадженою не тільки на сильнозабруднених ділянках, а й на суміжних із ними, менш забруднених, і дає змогу зберегти родючість ґрунту після вилучення металів. Найважливішими напрямками фітореємедіації є фітоекстракція, ризофільтрація та фітостабілізація [27]. Основні аспекти фітореємедіації ґрунтів від ВМ були розглянуті нами раніше [4]. Дана стаття присвячена висвітленню останніх даних щодо фітореємедіації ґрунтів, забруднених ВМ і можливості застосування арбускулярного мікоризного симбіозу з цією метою.

У процесі фітореємедіації ґрунтів від ВМ, використовують, як правило, рослини, що зростають на забруднених ВМ ґрунтах, які знаходяться неподалік від шахт, підприємств чорної та кольорової металургії. Загалом показано здатність до акумуляції ВМ у рослин різних видів, які належать щонайменше до 34 родин [23]. Понад 450 видів, що представляють близько 0,2 % покритонасінних, ідентифіковано як природні акумулятори металів (Zn, Ni, Mn, Cu, Co, Cd), металоїдів (As), неметалів (Se) [9,11,29]. Досить значна кількість цих видів належить до родини хрестоцвітих, зокрема родів бурачка *Alyssum* L. і талабану *Thlaspi* L. За стандартний критерій гіперакумуляції прийнято такі рівні накопичення ВМ: 10000 мкг/г сухої речовини для Zn і Mn, 1000 – для Ni, Cu, Co, Pb, Tl та Sb, 100 мкг/г для Cd. У всіх гіперакумуляторів чинник біоконцентрування, як правило, перевищує 1, а в деяких випадках досягає 50-100 [22,33].

Поглинання ВМ залежить від їх доступності для рослини, яка контролюється ґрунтовими чинниками, зокрема рН, катіонообмінна ємність, вміст органічних речовин [20], а також процесів,

що відбуваються в ризосфері [2,3]. Останнім часом значна кількість досліджень присвячена дії арбускулярних мікоризних (АМ) грибів на поглинання ВМ і стійкість рослин до їх дії. Мікоризний симбіоз є досить поширеним, його можуть формувати від 80 до 90% судинних рослин [10]. Мікоризні гриби відіграють ключову роль у збільшенні обсягу ґрунту, доступного для рослин. Доведено, що арбускулярні мікоризні гриби беруть участь у поглинанні не лише фосфору, але й інших елементів мінерального живлення (зокрема, азоту в амонійній формі, мікроелементів). В умовах забруднення ВМ ґрунтів, АМ гриби в деяких випадках можуть збільшувати поглинання ВМ та їх переміщення з коренів до надземної частини, що є важливим для фітоекстракції, тоді як в інших випадках вони сприяють іммобілізації ВМ в ґрунті, тобто можуть використовуватись для фітостабілізації.

Наявні у літературі дані свідчать про те, що ВМ можуть уповільнювати або ж повністю усувати колонізацію рослин АМ грибами [16], однак зустрічаються також відомості про те, що внесення в ґрунт осадів стічних вод, які містять ВМ, незначно впливало на розвиток арбускулярних мікориз [6]. Така неоднозначна дія ВМ на арбускулярні мікоризи може бути пов'язана з різним ступенем стійкості екотипів АМ грибів до дії ВМ [21].

Як правило, ВМ негативно впливають на проростання спор і ріст гіф АМ грибів [28]. Це було показано, зокрема, для цинку, свинцю і кадмію в умовах *in vitro*, у монокультурних культурах. Однак спори, взяті з забруднених ВМ ґрунтів, виявились більш толерантними порівняно з виділеними із незабруднених ґрунтів, що може бути пояснено скоріше фенотиповою пластичністю, ніж генетичними змінами, оскільки в наступних поколіннях толерантність втрачалась за відсутності ВМ. Крім того, спостерігається також видова специфічність толерантності АМ грибів до ВМ.

Так, проростання спор і ріст гіф, а також ріст позакореневого міцелію і споруляція АМ гриба *Glomus intraradices* Schenck et Smith за високих концентрацій цинку, свинцю і кадмію інгібувались менше, ніж *Glomus etunicatum* Becker et Gerdemann, що свідчить про більшу толерантність до цих ВМ *Glomus intraradices* [26].

В умовах вегетаційних дослідів ми вивчали дію інокуляції рослин арбускулярним мікоризним грибом *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerd et Trappe, ізольованим із забруднених ВМ ґрунтів, на ріст рослин люцерни на ґрунтах, з різним рівнем забруднення Zn, Pb, Cd, Cu і As внаслідок аварії на піритовій шахті [5]. Показано значне прискорення росту рослин та збільшення маси надземних органів у мікоризних рослин. Вплив мікоризації на ріст рослин люцерни був істотнішим на ґрунтах із вищим ступенем забруднення ВМ й арсеном. Інокуляція рослин виділеним із забруднених ґрунтів толерантним до ВМ ізолятом *Glomus mosseae* поліпшувала ріст рослин більш ефективно, порівняно з ізолятом *Glomus mosseae*, ВЕГ 119 із колекції Експериментальної станції Саїдину, взятим із забруднених місць. Оскільки за утворення мікоризного симбіозу поліпшувався ріст рослин люцерни і значна частина ВМ затримувалась в коренях, можна запропонувати використання ізолятів АМ грибів цього та інших видів, толерантних до ВМ, для фітостабілізації (імобілізації) ВМ.

Зауважимо, що в літературі є досить значна кількість даних про більшу ефективність автохтонних штамів мікроорганізмів, адаптованих до дії ВМ, за їх використання з метою фітореMediaції ґрунтів. Так, автохтонні штами мікроорганізмів (*Glomus mosseae* і *Brevibacillus brevis*), виділені із забруднених кадмієм ґрунтів, були ефективніші у поглинанні поживних речовин, імобілізації металів і зменшенні їх переміщення до надземної частини, ніж *G. mosseae*, що культивувався на чистому субстраті й використовувався для порівняння (з використанням бактерій або без них) [32]. У той же час АМ гриби, виділені з забруднених ґрунтів, при тривалому їх підтримуванні у культурі на інертних субстратах, що не містять ВМ, можуть втрачати толерантність до ВМ. Такий ефект було показано для ізолята *G. intraradices*, що походив з ґрунту, забрудненого марганцем [30]. На відміну від нього, в іншого ізоляту цього АМ гриба стійкість до свинцю залишалась стабільною. У зв'язку з цим ізоляти АМ грибів бажано безперервно культивувати в інертному середовищі з додаванням ВМ або, ще краще, в оригінальних забруднених ВМ ґрунтах, з яких ці гриби були виділені.

Імобілізація ВМ в ризосфері зумовлюється їх преципітацією в ґрунті, адсорбцією на повер-

хні кореня чи поглинанням і накопиченням у коренях. У мікоризних рослин відбувається імобілізація ВМ сполуками, які виділяє гриб, адсорбція на клітинних стінках гриба і хелатування ВМ усередині гриба [15]. Зокрема, ВМ зв'язуються у ґрунті з гломаліном – нерозчинним глікопротеїном, який синтезується і виділяється грибом. Гломалін можна екстрагувати з ґрунту разом зі значною кількістю зв'язаних ВМ. За деякими даними [18] до 4,3 мг міді, 0,08 мг кадмію, 1,12 мг свинцю на 1 г гломаліну може бути екстраговано із забруднених ґрунтів після інокуляції АМ грибами. В іншому експерименті цими дослідниками показано, що гломалін, виділений з гіфи АМ гриба *Gigaspora rosea* Nicol. & Schenck, міг зв'язувати до 28 мг міді на 1 г даного глікопротеїну в умовах *in vitro*. З метою фітостабілізації краще використовувати АМ гриби, що виділяють більше гломаліну [17]. Досить великі кількості ВМ можуть зв'язуватись з хітином клітинних стінок гриба. Пасивна адсорбція ВМ гіфами призводить до зв'язування кадмію, вміст якого може сягати 0,5 мг на 1 мг маси сухої речовини гриба [19]. При цьому адсорбція була вищою у толерантного до ВМ ізоляту *G. mosseae*, ніж у нетолерантного. Показано, що поглинання свинцю і його імобілізація коренями були більшими в коренях мікоризних рослин порівняно з немікоризними [13]. При цьому рівень секвестрування свинцю в коренях колонізованих рослин корелював з кількістю везикул гриба. Подібно до вакуолей рослин і грибів, везикули грибів можуть відігравати роль у депонуванні токсичних сполук з метою зменшення їх дії [17]. Важливість компартментації міді, зокрема її накопичення в специфічних структурах гриба (спорах і везикулах) для виживання в умовах забруднення цим елементом поряд із механізмами, що дозволяють зменшити негативні наслідки окиснювального стресу, аналізуються в огляді Н. Феррол та співавт. [14].

Дія АМ грибів, навіть адаптованих до ВМ, може бути неоднозначною і залежати від генотипу рослин. Так, у вегетаційних дослідах показано, що інокуляція АМ грибом *Glomus claroideum* Schenk et Smith в умовах забруднення міддю не впливала на ріст рослин-металофітів (*Oenothera picensis* Phil. та *Imperata condensata* Steud.), в той час як адаптований до дії міді штам цього гриба посилював ріст надземної частини соняшника (*Helianthus annuus* L.), особливо за високих рівнів міді [24]. Акумуляція гломаліну і зв'язування з ним міді були значно вищими у мікоризних рослин соняшника, що може мати значення для фітостабілізації.

Поряд з фітостабілізацією, інокуляція АМ грибами може використовуватись і для фітоекст-

рації ВМ, оскільки вони сприяють кращій доступності ВМ, збільшують їх поглинання і акумуляцію рослинами, поліпшують ріст рослин та посилюють їх толерантність до ВМ. У зв'язку з тим, що толерантність до ВМ змінюється залежно від генотипу, для фітоестракції необхідно підбирати найбільш ефективні штами АМ грибів.

Інокуляція АМ грибами може поєднуватись із внесенням у ґрунт хелатуючих агентів, які збільшують рухомість ВМ у ґрунті [12]. У цьому разі гриби можуть покращувати поглинання рослинами ВМ, запобігаючи їх вимиванню, а також послаблювати токсичну дію ВМ на рослини.

Загалом же наведені вище дані свідчать, що для фітореMediaції ВМ краще підходять автохтонні АМ гриби, виділені з ґрунтів, забруднених ВМ. Оскільки різні забруднені ґрунти характеризуються неоднаковим складом забрудників, бажано підбирати комбінації рослин і АМ грибів, які були б найпридатнішими для фітоестракції чи фітостабілізації.

Список літератури:

1. Гудков І.М. Стратегія агропромислового виробництва продукції рослинництва і тваринництва на забруднених радіонуклідами територіях // Аграрна наука і освіта. – 2000. – № 1. – С. 25-30.
2. Гуральчук Ж.З. Роль арбускулярних микориз в питанні растений и устойчивости к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – 36, № 3. – С. 217-228.
3. Гуральчук Ж.З. Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії. – К.: Логос, 2006. – 208 с.
4. Гуральчук Ж.З., Гудков І.М. ФітореMediaція та її роль в очищенні ґрунтів від важких металів та радіонуклідів // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – 37, № 5. – С. 330-358.
5. Гуральчук Ж.З., Дель Валь К., Бареа Х.М., Аккон-Агілар К. Дія інокуляції арбускулярним микоризним грибом *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerd et Trappe на ріст рослин люцерни в умовах забруднення цинком, свинцем, міддю, кадмієм і арсеном // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – 41, № 1. – С. 50-58.
6. Arnold P.T., Kaputcka L.A. VA mycorrhizal colonization and spore populations in abandoned agricultural field after five years of sludge addition // Ohio J. Sc. - 1987. – 87. – P. 112-114.
7. Assunção A.G.L., Bleeker P., ten Bookum W.M., Vooijs R., Schat H. Intraspecific variation of metal preference patterns for hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*: evidence from binary metal exposures // Plant and Soil. – 2008. – 303. – P. 289-299.
8. Assunção A.G.L., Da Costa Martins P., De Folter S., Vooijs R., Schat H., Aarts M.G.M. Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // Plant, Cell & Environment. – 2001. – 24. – P. 217-226.
9. Baker A.J.M., McGrath S.P., Reeves R.D., Smith J.A.C. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal-polluted soils // Phytoremediation of contaminated soil and water (Terry N., Banuelos J. eds). – Lewis Publishers, 2000. – P. 85-107.
10. Barea J.M., Jeffries P. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant-systems // Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology (Varma A., Hock B. eds). Springer-Verlag, Heidelberg. – 1995. – P. 521-559.
11. Brooks R.R. (ed.). Plants that hyperaccumulate heavy metals. Wallingford, UK: CAB Intern., 1998. – 384 p.
12. Chen B., Shen H., Li X., Feng G., Christie P. Effects of EDTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated by zinc // Plant and Soil. – 2004. – 261. – P. 219-229.
13. Chen X., Wu C., Tang J., Hu S. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment // Chemosphere. – 2005. – 60. – P. 665-671.
14. Ferrol N., González-Guerrero M., Valderas A., Benabdellah K., Azcón-Aguilar C. Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments // Phytochem. Rev. – 2009. – 8, N 3. – P. 551-559.
15. Gaur A., Adholeya A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils // Current Sci. – 2004. – 86. – P. 528-534.
16. Gildon A., Tinker P.B. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas // New phytol. – 1983. – 95. – P. 247-261.
17. Göhre V., Paszkowski U. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation // Planta. – 2006. – 223, N 6. – P. 1115-1122.
18. Gonzalez-Chavez M.C., Carrillo-Gonzalez R., Wright S.F., Nichols K.A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements // Environ. Pollut. – 2004. – 130. – P. 317-323.
19. Joner E.J., Briones R., Leyval C. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium // Plant Soil. – 2000. – 226. – P. 227-234.
20. Kayser A., Wenger K., Keller A., Attinger W., Felix N.R., Gupta S.K., Schulin R. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments // Environ. Sci. Technol. – 2000. – 34. – P. 1778-1783.
21. Leyval C., Weissenhorn I. Tolerance to metals of arbuscular mycorrhizal fungi from heavy metal polluted soils // Mycorrhizae in integrated systems: from genes to plant development (Azcon-Aguilar C., Barea J.M. eds.) – Brussels, Belgium: European Commission, 1996. – P. 452-454.
22. Ma L.Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W.H., Cai Y., Kennelley E.D. A fern that hyperaccumulates arsenic – a hardy, versatile, fast growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils // Nature. – 2001. – 409. – P. 579.

23. Macnair M.R. The hyperaccumulation of metals by plants // *Advances in Botanical Research*. – 2003. – 40. – P. 63–105.
24. Meier S., Borie F., Curaqueo G., Bolan N., Cornejo P. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on metallophyte and agricultural plants growing at increasing copper levels // *Appl. Soil Ecol.* – 2011 (In press). <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.10.018>.
25. Milner M.J., Kochian L.V. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system // *Annals of Botany*. – 2008. – 102. – P. 3–13.
26. Pawlowska T.E., Charvat I. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – 70. – P. 6643–6649.
27. Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P.B.A., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants // *Biotechnology*. – 1995. – 13, N 5. – 468–474.
28. Shalaby A.M. Responses of arbuscular mycorrhizal fungal spores isolated from heavy metal-polluted and unpolluted soil to Zn, Cd, Pb and their interactions *in vitro* // *Pakistan J. Biol. Sci.* – 2003. – 6. – P. 1416–1422.
29. Sors T.G., Ellis D.R., Na G.N., Lahner B., Lee S., Leustek T., Pickering I.J., Salt D.E. Analysis of sulfur and selenium assimilation in *Astragalus* plants with varying capacities to accumulate selenium // *Plant J.* – 2005. – 42. – P. 785–797.
30. Sudová R., Jurkiewicz A., Turnau K., Vosátka M. Persistence of heavy metal tolerance of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* under different cultivation regimes // *Symbiosis*. – 2007. – 43. – P. 71–81.
31. Taylor S.I., Macnair M.R. Within and between population variation for zinc and nickel accumulation in two species of *Thlaspi* (Brassicaceae) // *New Phytologist*. – 2006. – 169. – P. 505–514.
32. Vivas A., Barea J.M., Azcón R. Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil // *Environ. Pollut.* – 2005. – 134, N 2. – P. 257–266.
- Zhao F.J., Lombi E., McGrath S.P. Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // *Plant Soil*. – 2003. – 249. – P. 37–43.

THE ARBUSCULAR MYCORRHIZA IN HEAVY METAL PHYTOREMEDIATION USE PECULIARITIES

Zh.Z. Guralchuk

The article presents data about plants that can accumulate significant quantities of heavy metals. Highlights some mechanisms of mycorrhizal symbiosis HM tolerance and perspectives of AM fungi use for phytoremediation.

Keywords: heavy metals, hyperaccumulators, phytoremediation, mycorrhiza, arbuscular mycorrhizal fungi

Одержано редколлегією 21.02.2012