

УДК 579.262; 579.64; 579.66

UDC 579.262; 579.64; 579.66

4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические науки)

4.1.2. Plant breeding, seed production and biotechnology (biological sciences)

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ, ВКЛЮЧАЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМЫ *RHODOCOCCUS* И *SHEWANELLA*

INFLUENCE OF HEAVY METALS ON THE FUNCTIONING OF PLANT-MICROBIAL FUEL CELLS, INCLUDING *RHODOCOCCUS* AND *SHEWANELLA* MICROORGANISMS

Гронина Антонина Дмитриевна
магистр

Gronina Antonina Dmitrievna
master's student

Волченко Никита Николаевич
канд.биол.наук, доцент

Volchenko Nikita Nikolaevich
Cand.Biol.Sci., Associate Professor

Самков Андрей Александрович
канд.биол.наук, доцент

Samkov Andrey Aleksandrovich
Cand.Biol.Sci., Associate Professor

Худокормов Александр Александрович
канд.биол.наук, доцент

Khudokormov Aleksandr Aleksandrovich
Cand.Biol.Sci., Associate Professor

Круглова Мария Николаевна
аспирант

Kruglova Maria Nikolaevna
graduate student

Моисеева Елена Владимировна
аспирант
ФГБОУ ВО КубГУ «Кубанский государственный университет», Краснодар, Россия

Moiseeva Elena Vladimirovna
graduate student
Kuban State University, Krasnodar, Russia

Проблема загрязнения окружающей среды остаётся актуальной на протяжении длительного времени. В статье показана возможность функционирования растительно-микробных топливных элементов на основе риса, включающих микроорганизмы *Rhodococcus* и *Shewanella*, для выведения тяжелых металлов из окружающей среды и снижения нагрузки на экосистему. Выявлен потенциал в снижении концентрации ионов меди и никеля в среде РМТЭ, а также в генерации энергии системами

The problem of environmental pollution has been relevant for a long time. The article shows the possibility of functioning of plant-microbial fuel cells based on rice, including microorganisms *Rhodococcus* and *Shewanella*, for removing heavy metals from the environment and reducing the load on the ecosystem. The potential for reducing the concentration of copper and nickel ions in the RMFC environment, as well as for energy generation by systems, is revealed

Ключевые слова: ТЯЖЁЛЫЕ МЕТАЛЛЫ, РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫЕ ТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ, БИОЭЛЕКТРОГЕНЕЗ

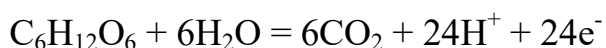
Keywords: HEAVY METALS, PLANT-MICROBIAL FUEL CELLS, BIOELECTROGENESIS

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-208-050>

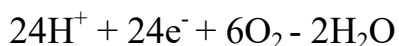
Введение. Одними из наиболее распространенных неорганических загрязнителей являются тяжёлые металлы. Их токсичность обусловлена химической реактивностью их ионов с клеточными белками, мембранными и ферментативными системами. Поскольку тяжёлые металлы не могут разлагаться или разрушаться, они сохраняются в окружающей среде.

В настоящее время идут активные поиски эффективного способа очистки окружающей среды от тяжелых металлов. Перспективными в этом направлении являются растительно-микробные топливные элементы (РМТЭ). Это гибридная технология, сочетающая в себе преимущества растений и микроорганизмов, помещенных в электрохимические ячейки различного дизайна [1, 2]. Её основой является технология микробных топливных элементов – биотехнологических устройств, в которых микроорганизмы за счёт анаэробного дыхания генерируют маломощный электрический ток. Они представляют из себя системы с двумя разнесенными в пространстве электродами, соединёнными в цепь через измерительное устройство. Анодный электрод при этом располагается в более анаэробных условиях и выполняет роль конечного акцептора электронов для дыхательных цепей окружающих его микроорганизмов. Катодный электрод находится в строго аэробных условиях, он принимает от анода электроны и протоны. Соответствующие для обоих электродов реакции представлены ниже:

Анод:



Катод:



Растительно-микробный топливный элемент является усложнённой разновидностью МТЭ, в котором в пространстве расположения электродов укоренены высшие растения. Их функция в системе заключается в

поставке продуктов фотосинтеза в виде корневых экссудатов, служащих питательными веществами для бактерий.

Другим важным направлением исследования подобных систем являются применения в целях биоремедиации, главным образом в составе wetland-систем. Они применяются как правило для переувлажненных почв, водно-болотных условий или соответствующих им модельных лабораторный условий. При этом одним из ключевых модельных растений является рис *Oryza sativa* [3, 4] как культура способная расти в переувлажнённых условиях, играющая значительную роль в сельском хозяйстве стран Азии, а также России. Актуальность проблемы роста риса в присутствии тяжелых металлов связана с высоким уровнем загрязнения ими водных экосистем, быстрой миграцией этих токсикантов в водно-почвенной среде, способностью поглощаться из неё растениями, накапливаться в ней. С другой стороны, способность растений выводить поллютанты из почвы за счёт их поглощения и аккумуляции в органах и тканях широко используется в технологиях фиторемедиации [5, 6], одним из перспективных направлений которой является технология растительно-микробных топливных элементов [7, 8].

Поскольку Краснодарский край, наряду с регионами Дальнего Востока является основным районом производства риса в России, целью данной работы стало изучение влияния различных тяжелых металлов на растительно-микробный топливный элемент на основе риса *Oryza sativa* и микроорганизмов родов *Shewanella*, *Rhodococcus*. Первый из них относится к электрогенным культурам, второй – к штаммам-биодеструкторам поллютантов и фитостимуляторам.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись РМТЭ на основе риса *Oryza sativa* и микроорганизмов родов *Shewanella*, *Rhodococcus*. Оценивали влияние солей тяжелых металлов меди и никеля, на биоэлектрогенез в данных РМТЭ, динамику роста растений, изменение

концентрации поллютантов. Применяли рос сорта “Рапан”, полученный из Федерального научного центра риса (Краснодар). Штамм *Rhodococcus erythropolis* В2 (ВКМ № АС-1661), выделенный профессором Э.В.Карасёвой, был получен из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биохимии Кубанского государственного университета. Штамм *Shewanella oneidensis* MR-1 (ВКПМ № В-9861) был получен из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов.

Растительно-микробный топливный элемент представлял собой цилиндрический пластиковый сосуд объёмом 1,5 л., заполненный на 1 л минеральным субстратом (керамзитом или песком) со 100% увлажнением жидкой питательной средой – раствором Кнопа [9]. Микроорганизмы вносились в виде суспензии с титром 10^6 КОЕ/мл. Соли тяжёлых металлов вносились в следующих концентрациях, в пересчёте на катион: Ni^{2+} – 600 мг/л (3 ПДК), Cu^{2+} – 2,5 мг/л (2 ПДК).

Электроды изготавливались из углеродного войлока «Карбопон» и графитовых стержней. К электродам прикреплялись провода с резиновой изоляцией. В цепи МТЭ были включены резисторы с сопротивлением 1 кОм. Анод площадью $38,5 \text{ см}^2$ располагался в донном слое (анаэробные условия), катод такого же размера лежал на поверхности раздела фаз – жидкой и воздушной (аэробные условия). Измерение электрического напряжения проводили с помощью многоканального автоматического вольтметра авторской конструкции А.А.Лазукина.

Измерение концентраций ионов тяжёлых металлов в водной фазе исследуемых РМТЭ проводили фотометрическим способом с помощью многопараметрического фотометра Hanna Instruments (США) и набора реактивов к нему. Измерения проводились на десятые, двадцать первые и тридцать пятые сутки.

Результаты и обсуждение. Первичной задачей являлась оценка ростовой активности риса в условиях РМТЭ с разными минеральными

наполнителями, в том числе в присутствии тяжелых металлов в качестве модельных токсикантов. На рисунке 1 показана динамика роста риса в среде с керамзитом в случае внесения Ni^{2+} , Cu^{2+} в сравнении с контролем без воздействия тяжелых металлов. Как видно, во всех случаях рост присутствовал, с выходом на плато к 21-м суткам. Наибольшие значения высоты побегов характерны для контрольных образцов. К 35-суткам присутствие Ni^{2+} в концентрации 3 ПДК и Cu^{2+} в концентрации 2 ПДК привело к снижению длины побегов относительно контроля в 3 и 1,8 раза соответственно.

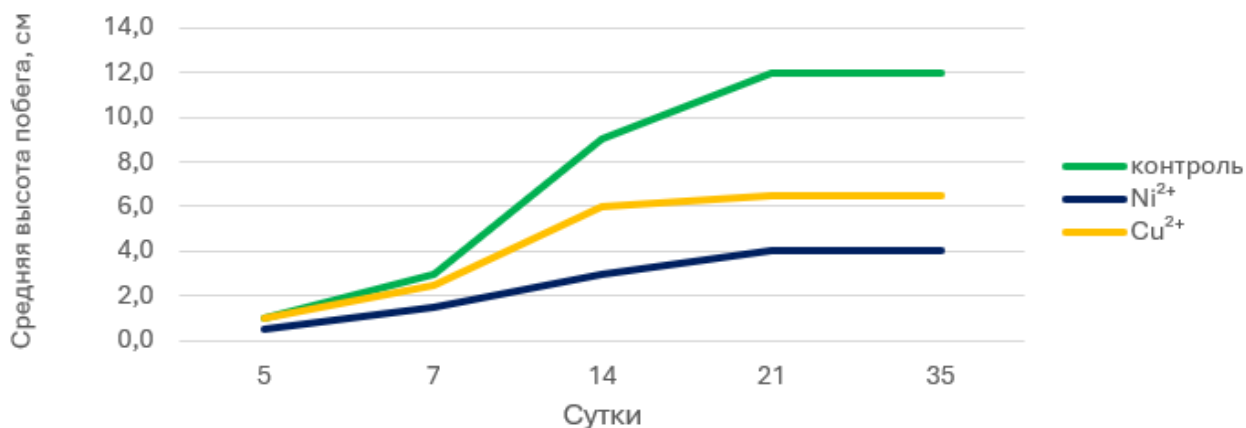


Рисунок 1 – Рост риса сорта «Рапан» в присутствии солей тяжёлых металлов с керамзитом в качестве минерального наполнителя РМТЭ

На рисунке 2 показана динамика роста в растительно-микробных топливных элементах, содержащих песок как субстрат для роста риса. Как видно, общая динамика роста во времени значительно не изменилась, однако были достигнуты большие длины побегов – 27 см в контроле, 20 и 27 см в присутствии никеля и меди соответственно.

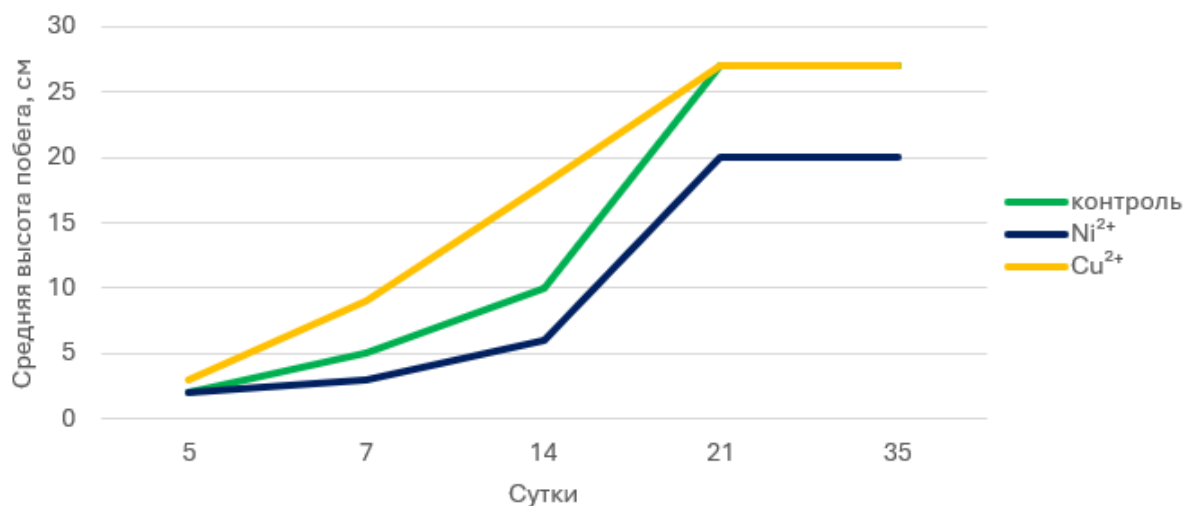


Рисунок 2 – Рост риса сорта «Рапан» в присутствии солей тяжёлых металлов с песком в качестве минерального наполнителя РМТЭ

Таким образом токсический эффект при росте в песке был характерен только для никеля, медь в использованной концентрации не влияла на рост растений.

Ключевым показателем в растительно-микробных топливных элементах является биоэлектрогенез, который может быть описан различными характеристиками – электрическим напряжением, силой тока, удельной мощностью на площадь электрода или объём камеры РМТЭ. На рисунке 3 представлена динамика электрогенеза в РМТЭ в присутствии солей тяжёлых металлов, выраженного в виде удельной мощности по отношению к площади анода.

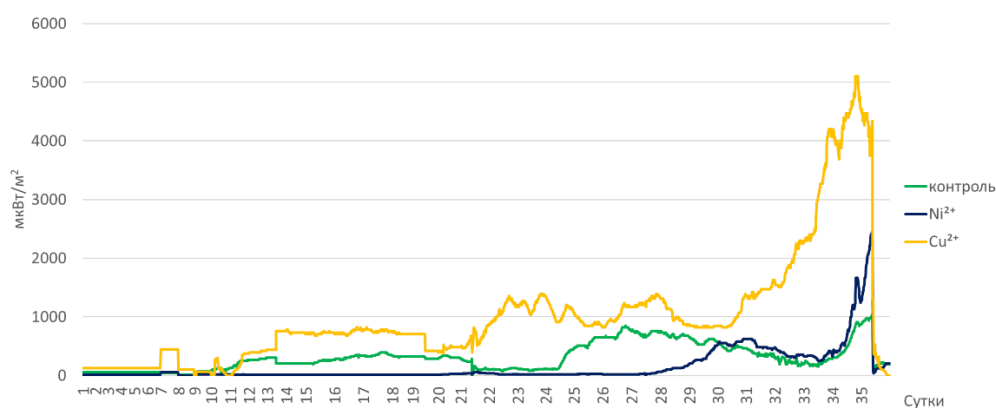


Рисунок 3 – Электрогенез в растительно-микробных топливных элементах с керамитом в присутствии солей тяжёлых металлов и в контроле без них

Как видно из рисунка 3, биоэлектrogenез отмечался во всех вариантах опыта, причем в случае присутствия меди – он был даже выше, чем в контрольном варианте. Никель оказывал в целом подавляющий эффект, что соответствовало и минимальным показателями длины побегов.

В растительно-микробных системах на основе керамзита, содержащих тяжелые металлы, внесение микроорганизмов *S. oneidensis* MR-1 и *R. erythropolis* B2 дало различный эффект. В варианте с никелем – отсутствовали выраженные различия с опытом без инокуляции микроорганизмов. В варианте с медью – присутствовал явный стимулирующий эффект при внесении биомассы шеванеллы и родококка: с 18-суток опыта мощность выросла до уровня более 2000 мкВт/м², с 27-х суток – она колебалась в пределах 5000-6000 мкВт/м², в то время как без бактериализации пиковый уровень в 4000-5000 мкВт/м² был достигнут лишь в последние сутки эксперимента.

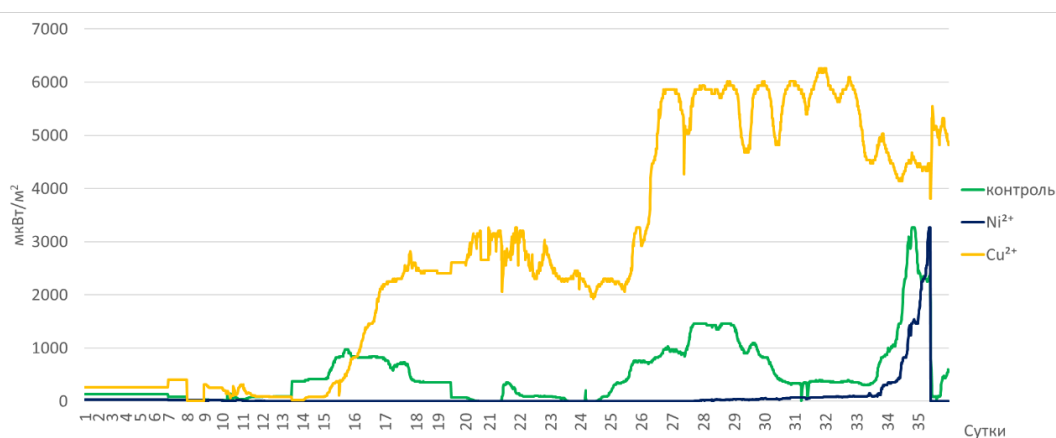


Рисунок 4 – Электрогенез в растительно-микробных топливных элементах с керамзитом в присутствии солей тяжёлых металлов и в присутствии микроорганизмов *S. oneidensis* MR-1 и *R. erythropolis* B2

Сравнение динамики роста (рис. 1, 2) и удельной мощности тока (рис. 3, 4) показывает, что активизация биоэлектрических процессов начиналась в период 10-14 суток опыта, что соответствует стадии активного роста длины побегов в период 7-14 суток. Можно предположить,

что интенсификация биосинтетических процессов приводила к повышенному выделению корневых экссудатов, ассимилируемых прикорневой микробиотой, в том числе и участвующей в электрогенных процессах.

На протяжении всего эксперимента производилось измерение концентрации тяжелых металлов в жидкой фазе растительно-микробных топливных элементов, результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Концентрация ионов тяжелых металлов в водной среде РМТЭ в течение эксперимента

Вариант опыта	Концентрация ионов тяжелых металлов, мг/л			
	1-е сутки	10-е сутки	21-е сутки	35-е сутки
Керамзит, Cu^{2+}	2,5	0,32	0,09	0,17
Керамзит, Cu^{2+} , бактерии	2,5	0,27	0,32	0,17
Керамзит, Ni^{2+}	600	300	230	60
Керамзит, Ni^{2+} , бактерии	600	110	50	40
Песок, Cu^{2+}	2,5	0,04	1,1	0,65
Песок, Cu^{2+} , бактерии	2,5	0,33	0,34	0,47
Песок, Ni^{2+}	600	220	10	20
Песок, Ni^{2+} , бактерии	600	70	60	10

Как видно из таблицы, за весь период измерений наблюдалось снижение концентрации ионов тяжёлых металлов в ячейках. Наибольшие изменения отмечались в первые десять суток, что могло быть обусловлено как адсорбцией ионов гидропонным материалом, так и фитомассой активно растущих побегов. С переходом растений в стационарное состояние динамика падения концентрации ионов меди и никеля в растворе существенно замедлилась. Постепенное снижение вплоть до тридцать пятых суток в присутствии ионов никеля (до 10-60 мг/л) и меди (до 0,17-0,65 мг/л) уже вероятно обусловлено поглощением тяжёлых металлов биомассой риса. Общая динамика мало зависела от присутствия

микроорганизмов и биоэлектрохимических реакций, что позволяет сделать вывод о том, что уменьшение содержания поллютантов в растворе связано с ростом и развитием риса.

Заключение. Была показана возможность функционирования микробных топливных элементов на основе риса в присутствии тяжелых металлов и бактериализации культурами шеванеллы и родококка. Было установлено негативное действие на рис катионов тяжёлых металлов, которое частично сглаживалось в присутствии микроорганизмов. Анализ электрогенеза РМТЭ показал большие величины в присутствии Cu^{2+} – от 150 до 1900 мкВт/м², в присутствии Ni^{2+} – от 18 до 490 мкВт/м². Внесение микроорганизмов дало стимулирующий эффект в случае РМТЭ с присутствием меди – от 200 до 6260 мкВт/м². Оценка изменения содержания тяжелых металлов в водной среде РМТЭ показала снижение их концентраций в течение 35 суток опыта: меди – на 93 %, никеля – на 90 %.

Литература

1. Phytoremediation of heavy metals in soil and water: An eco-friendly, sustainable and multidisciplinary approach / S. Bhat, O. Bashir, S. Haq [et al.] // Chemosphere. – 2022. – V. 303. – P. 147-1147.
2. Accumulation and bioconcentration of heavy metals in two phases from agricultural soil to plants in Usangu agroecosystem-Tanzania / L. Munishia, P. Ndakidemi, W. Blake [et al.] // Heliyon. – 2021. – V. 7. – P. 1475-1483.
3. Mitigation effects of the microbial fuel cells on heavy metal accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) / W. Gustave, Z. Yuan, X. Li [et al.] // Environmental Pollution. – 2020. – V. 260. – P. 113989.
4. Plant microbial fuel cells with *Oryza rufipogon* and *Typha orientalis* for remediation of cadmium contaminated soil / N. Tongphanpharn, C. Chou, C. Guan [et al.] // Environmental Technology & Innovation. – 2021. – V. 24. – P. 1020-1034.
5. Налета, Е. В. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на фитотоксические свойства почв городов Ростовской области / Е. В. Налета, С. И. Колесников, К. Ш. Казеев // Научный журнал КубГАУ. – 2015. – № 112 (08). – 11 с.
6. Яхин, О. И. Влияние регулятора роста растений стифун на аккумуляцию кадмия проростками зерновых культур / О. И. Яхин, А. А. Лубянов, И. А. Яхин // Агрохимия. – 2011. – № 5. – С. 76-83.
7. Plant microbial fuel cells for recovering contaminated environments / V. Ancona, C. Cavone, P. Grenni [et al.] // International Journal of Hydrogen Energy. – 2024. – V. 72. – P. 1116-1126.

8. Microbial phyto-power systems – A sustainable integration of phytoremediation and microbial fuel cells / B. Saba, M. Khan, A. Christy [et al.] // *Bioelectrochemistry*. – 2019. – V. 127. – P. 1-11.

9. Научные основы формирования ассортимента пищевых продуктов с заданными свойствами. Технологии получения и переработки растительного сырья: коллективная монография / Л. Н. Меняйло, И. А. Батурина, О. Ю. Веретенова [и др.] под науч. ред. Л. Н. Меняйло. – Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2015. – 212 с.

References

1. Phytoremediation of heavy metals in soil and water: An eco-friendly, sustainable and multidisciplinary approach / S. Bhat, O. Bashir, S. Haq [et al.] // *Chemosphere*. – 2022. – V. 303. – P. 147-1147.

2. Accumulation and bioconcentration of heavy metals in two phases from agricultural soil to plants in Usangu agroecosystem-Tanzania / L. Munishia, P. Ndakidemi, W. Blake [et al.] // *Heliyon*. – 2021. – V. 7. – P. 1475-1483.

3. Mitigation effects of the microbial fuel cells on heavy metal accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) / W. Gustave, Z. Yuan, X. Li [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2020. – V. 260. – P. 113989.

4. Plant microbial fuel cells with *Oryza rufipogon* and *Typha orientalis* for remediation of cadmium contaminated soil / N. Tongphanpharn, C. Chou, C. Guan [et al.] // *Environmental Technology & Innovation*. – 2021. – V. 24. – P. 1020-1034.

5. Naleta, E. V. Vlijanie zagriznenija tzhzhelymi metallami na fitotoksicheskie svojstva pochv gorodov Rostovskoj oblasti / E. V. Naleta, S. I. Kolesnikov, K. Sh. Kazeev // *Nauchnyj zhurnal KubGAU*. – 2015. – № 112 (08). – 11 s.

6. Jahin, O. I. Vlijanie reguljatora rosta rastenij stifun na akkumuljaciju kadmija prorostkami zernovyh kul'tur / O. I. Jahin, A. A. Lubjanov, I. A. Jahin // *Agrohimija*. – 2011. – № 5. – S. 76-83.

7. Plant microbial fuel cells for recovering contaminated environments / V. Ancona, C. Cavone, P. Grenni [et al.] // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2024. – V. 72. – P. 1116-1126.

8. Microbial phyto-power systems – A sustainable integration of phytoremediation and microbial fuel cells / B. Saba, M. Khan, A. Christy [et al.] // *Bioelectrochemistry*. – 2019. – V. 127. – P. 1-11.

9. Nauchnye osnovy formirovanija assortimenta pishhevyh produktov s zadannymi svojstvami. Tehnologii poluchenija i pererabotki rastitel'nogo syr'ja: kollektivnaja monografija / L. N. Menjajlo, I. A. Baturina, O. Ju. Veretenova [i dr.] pod nauch. red. L. N. Menjajlo. – Krasnojarsk: Sib. feder. un-t, 2015. – 212 s.