

**ВІДКРИТИЙ МІЖНАРОДНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РОЗВИТКУ**

**ЛЮДИНИ «УКРАЇНА»**

*Інститут біомедичних технологій*

*Кафедра мікробіології, сучасних біотехнологій екології та імунології*

«Допущено до захисту»

Протокол засідання кафедри

№\_\_ від «\_\_\_\_\_» 2023 р.

Зав. кафедрою

\_\_\_\_\_ Тетяна ТУГАЙ

**Перспективні дерев'янисті енергетичні рослини для ремедіації  
ґрунтів, забруднених важкими металами в Україні**

Випускна кваліфікаційна робота

магістра заочної форми

навчання за спеціальністю

101 Екологія

Бутусової К.О.

Науковий керівник PhD

Арданов Павло

Оцінка захисту роботи

---

Робота виконана на базі Інституту біомедичних технологій, ВІДКРИТИЙ  
МІЖНАРОДНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РОЗВИТКУ ЛЮДИНИ «УКРАЇНА» за  
консультації к.б.н., Мовчан В.О.

Київ 2023

## Реферет

Нинішня російська війна в Україні призвела до масштабних забруднень ґрунту важкими металами. Джерелами такого забруднення є і склад знарядів, погоріла техніка, уламки споруд, спричинені війною аварії різноманітних підприємств, витоки із сховищ відходів, порушення хвостосховищ, мулонакопичувачів та териконів. Оксиди, солі та інші сполуки за участю важких металів потрапляють у ґрунти. Окрім того варто зазначити, що і до повномасштабного нападу росії забруднення ґрунтів в Україні було значним. 15 млн га – саме стільки забруднених і малопродуктивних ґрунтів у країні, і значна з них частка забруднена важкими металами.

Важкі метали – неточний термін, що змінювався з часом. Потреба у створенні такого терміну полягала в узагальненні особливо токсичних металів під одним визначенням. До важких металів можна зарахувати Mn, Co, As, Cd, Pb, Cu, Zn, Na, K, Al, Ca, Mg, Fe, Ni. Частина цих металів є необхідними для рослин і людини мікроелементами, тому їхнє знаходження в ґрунті є бажаним, проте їхнє надмірне число пригнічує ріст рослин, знижує фотосинтез, викликає хлороз, загибель рослин, а також є отруйним для людини і всіх інших видів живих істот. Деякі важкі метали, такі як свинець, є отруйними навіть за дуже низької концентрації. З огляду на це надважливим стає ремедіація ґрунтів України від важких металів.

Ремедіація може здійснюватися різними методами. Існують різні стратегії, включаючи фізичні, хімічні та біологічні. Як правило, такі фізико-хімічні методи, як електрокінетика, інкапсуляція, твердіння, промивання ґрунту є дорогими та роблять ґрунт непридатним для розвитку рослин. Вони можуть використовуватися у межах міста, коли площі забруднень невеликі, а через активний доступ до забрудненої території населення необхідна швидка детоксикація землі. У такому випадку є можливим привезення нового родючого ґрунту. Біоремедіація поділяється на фіторемедіацію (очищення рослинами), біоремедіацію (у вузькому значенні це очищення бактеріями), ціаноремедіацію (очищення ціанобактеріями) та мікоремедіацію (очищення грибами).

### Біоремедіація

У широкому сенсі біоремедіація – це варіант ремедіації на біологічній основі, який спирається на біологічні механізми, які розщеплюють, детоксикують і мінералізують або біотрансформують забруднюючі речовини до нешкідливого стану. Частіше під терміном біоремедіація, мається на увазі використання мікробів. Методи біоремедіації включають застосування

мікроорганізмів *in-situ* та *ex-situ*, Певні види мікробів можуть переносити токсичність ТЕ і поступово детоксикувати їх, тим самим забезпечуючи економічно ефективне рішення для відновлення сильних забруднень навколишнього середовища (Gadd, 2004). Біоремедіація іноді також включає біоаугментацію, процес нанесення мікробів на місце зараження разом із використанням поживних речовин і ферментів для покращення росту мікроорганізмів. Дослідники продемонстрували роль видів *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* та *Rhodococcus* в ефективній біоремедіації ТМ (Adriano et al., 2004).

Біоремедіація, якщо застосовувати її окремо від інших методів, також страждає на різні недоліки, багато з яких можна подолати шляхом комбінованого застосування фіто- та біоремедіації (Voopathy, 2000).

### Фіторемедіація

Стратегія ремедіації на основі фіторемедіації – це екологічно чиста техніка відновлення рослинного покриву на постраждалих ділянках землі, з, можливо, меліорацією або екорекреацією для стабілізації ТЕ та зменшення токсичної дії. Фіторемедіація вирішує проблеми забруднення довкілля різними видами рослин і пов'язаною з ними мікробіотою шляхом біотрансформації, деградації або усунення забруднень, які знаходяться в повітрі, ґрунті або підземних водах (Tangahu et al., 2011). Деревя також допомагають знерухомити мобільні ТЕ в ґрунті і, отже, зменшити забруднення повітря. Фітоекстракція є найважливішою стратегією видалення ТЕ. Накопичення надземної біомаси більш привабливе, ніж коренева система (Tangahu et al., 2011). Проте інші стверджують, що накопичення в підземній біомасі є досить більш бажаним через зниження таким чином ймовірності розповсюдження ТЕ тваринами, що пасуться. ТЕ не піддаються біологічному розкладанню, вони лише зберігаються в їхній вихідній формі або в іншій менш токсичній всередині рослинної клітини. Після того, як рослини зібрано та компостовано, ТЕ можна відновити за допомогою різних процедур переробки. Для цілей фітоекстракції найбільш бажаними вважаються рослини-акумулятори та гіперакумулятори. Рослина, яка накопичує мінімум 100 мг г<sup>-1</sup> (0,01% сухої маси (DW)) Cd, As і деяких інших слідів металів, або 1000 мг г<sup>-1</sup> (0,1% DW) Co, Cu, Cr, Ni і Pb, або 10 000 мг г<sup>-1</sup> (1% DW) Mn і Ni називається гіперакумулятором (Watanabe, 1997). В даний час, хоча є майже 400 відомих гіперакумуляторів, більшість з них не є придатними для цілей фітоекстракції через їх знижену швидкість росту (Salt and Kramer, 2000) Фітосеквестрація — це інший спосіб фіторемедіації, який, на відміну від фітоекстракції (тобто мобілізації металу), базується на іммобілізації металу. Це обмежує переміщення ТМ із ґрунту в інші середовища, такі як вода, повітря та біота. Найбільш важливими є такі механізми, як сорбція через коріння, осадження шляхом

комплексоутворення або відновлення валентностей металів. Фітофільтрація – це видалення ксенобіотиків зі стічних вод корінням рослин.

[49] Хоча фіторемедіація є значно повільнішою, ніж звичайні фізичні (видалення ґрунту) або хімічні (зміни ґрунту та закріплювачі) методи, вона є більш економічно ефективною, екологічною та естетично приємною (Ali et al., 201).

Методологія біологічної ремедіації стимулює відновлення росту та продуктивності рослин на забруднених ґрунтах. Тому, а ще завдяки своїй дешевизні, вона ідеально підходить для великих сільськогосподарських територій, що і є нині актуальним в Україні. Рослини, які можуть накопичувати токсичні важкі метали у своїх частинах, особливо в коренях і пагонах, класифікуються як гіперакумулятори. Наразі широко поширене використання не рослин, які акумулюють найбільші концентрації металів, а рослин, які швидко збільшують свою біомасу, завдяки чому теж відбувається процес ремедіації. Використання біоенергетичних рослин вирішує проблему фінансування ремедіації ґрунтів, оскільки в такому випадку є можливим залучення приватних коштів та створення компаній, що будуть займатися вирощуванням біоенергетичних культур на маргінальних землях.

[12] Біомаса — це термін для всіх органічних матеріалів рослинного походження, включаючи водорості та сільськогосподарські культури (McKendry, 2002). Біомаса виробляється зеленими рослинами, перетворюючи сонячне світло на рослинний матеріал за допомогою фотосинтезу, і включає всю наземну та водну рослинність, а також усі органічні відходи. Біомаса є загальноприйнятою формою відновлюваної енергії і вважається засобом, що допомагає зменшити глобальне потепління шляхом поступового витіснення використання викопного палива ( McKendry, 2002). Серед доступних альтернативних джерел енергії, включно з гідроенергією, сонячною енергією, вітром тощо для пом'якшення викидів парникових газів, біомаса є єдиним екологічно чистим варіантом. Проте поточна економіка виробництва біомаси є трохи дорожчою, ніж викопне паливо, але тенденції показують, що завдяки ефективному біоциклу, включаючи вирощування, транспортування та спалювання, біомаса також може бути економічно конкурентоспроможною (Khan et al., 2009)

Основними критеріями відбору видів біомаси є швидкість росту, легкість управління, збирання врожаю та властиві властивості матеріалу, такі як вміст вологи/золи/лугу, останні властивості впливають на робочі характеристики систем термічного перетворення (McKendry, 2002 )

[12] В останнє десятиліття використання методів агролісівництва, таких як поросль короткої ротації (SRC) з клонами дерев з високою біомасою, привернуло велику увагу власників НМCS, менеджерів і політиків, оскільки воно може поєднувати виробництво біоенергії, зниження ризиків і відновлення родючості ґрунту та екосистемних послуг ( van Slycken et al., 2013b ).

У цьому огляді ми розглянемо ті дендроремедіатори, які можуть використовуватися, як енергетичні культури, визначимо, який вид є найбільш привабливим для вирощування в Україні та специфіку ремедіації воєнних забруднень.

Реакція клону Adda (*Populus* × *euramericana*) на підвищення концентрації міді

У цьому експерименті досліджувався гібрид *P.* × *euramericana*, клон Adda. Було відібрано 40 однорідних рослин і випадковим чином розподілено на п'ять груп. Проводилася обробка розчином Хогланда, що містить різні концентрації  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ : 0,4 (контроль), 20, 100, 500 і 1000 мкМ .

Біомаса всіх органів рослини (листя, черешки, стебло та коріння) зросла в момент часу T2 порівняно з відповідними значеннями, вимірними в момент часу T1 (табл. 1). Під час T2 відмінності в біомасі всіх органів між рослинами, вирощеними при 0,4 (контроль) і 20 мкМ Cu, не були значущими, тоді як при 100, 500 і 1000 мкМ Cu спостерігалася загальне зниження біомаси рослин. Тенденція до зниження росту при збільшенні Cu була підтверджена значеннями RGR (відносної швидкості росту). На значення SL (довжини стебла), SD (діаметра стебла) і LA (площі листя) також вплинула обробка Cu в концентраціях вище 20 мкМ (таблиця 2). У момент часу T1 єдині очевидні токсичні ефекти були при 1000 мкМ Cu.

Таблиця 1. Листя, черешки, стебло, коріння та загальна біомаса *P.* × *euramericana* клону Adda, обробленого 0,4 (контроль), 20, 100, 500 та 1000 мкМ Cu протягом 15 ( $T_1$ ) або 34 ( $T_2$ ) днів. Значення є середнім ± стандартне відхилення ( $n = 4$ ). Одиницею вимірювання є г сухої маси. Середні значення в рядках, за якими йдуть різні літери (a–c), значно відрізняються на рівні  $P = 0,05$  (тест ЛСД).

Time	Plant organ	Cu treatment					ANOVA P-values
		0.4 μM	20 μM	100 μM	500 μM	1000 μM	
$T_1$	Leaves	2.59 ± 0.64	3.14 ± 1.26	2.28 ± 0.65	2.27 ± 0.86	1.29 ± 0.193	ns
	Petioles	0.19 ± 0.07	0.28 ± 0.15	0.15 ± 0.05	0.16 ± 0.07	0.07 ± 0.02	ns
	Stem	0.87 ± 0.36	1.22 ± 0.63	0.63 ± 0.30	0.740 ± 0.43	0.33 ± 0.08	ns
	Roots	0.37 ± 0.09	0.40 ± 0.17	0.24 ± 0.10	0.42 ± 0.35	0.15 ± 0.06	ns
	Total	4.04 ± 1.17	5.05 ± 2.23	3.32 ± 1.12	3.60 ± 1.73	1.85 ± 0.37	ns
$T_2$	Leaves	7.56 ± 3.10 a	8.10 ± 1.80 a	3.83 ± 0.65 b	3.07 ± 0.42 b	2.23 ± 0.50 b	.0003
	Petioles	0.71 ± 0.29 a	0.75 ± 0.12 a	0.35 ± 0.06 b	0.27 ± 0.03 b	0.18 ± 0.05 b	.0001
	Stem	3.38 ± 1.67 a	3.65 ± 0.77 a	1.55 ± 0.33 b	1.23 ± 0.07 b	0.82 ± 0.33 b	.0006
	Roots	1.24 ± 0.44 a	1.08 ± 0.14 ab	0.72 ± 0.09 bc	0.70 ± 0.22 c	0.43 ± 0.18 c	.0026
	Total	12.90 ± 5.50 a	13.59 ± 2.84 a	6.46 ± 1.15 bc	5.28 ± 0.75 c	3.67 ± 1.07 c	.0003

Таблиця 2 . Довжина стебла (SL), діаметр стебла (SD), площа листя (LA), питома площа листя (SLA), відносна швидкість росту (RGR) *P. × euramericana* клону *Adda*, обробленого 0,4 (контроль), 20, 100, 500 та 1000 мкМ Cu протягом 15 ( $T_1$ ) або 34 ( $T_2$ ) днів. Значення є середнім  $\pm$  стандартне відхилення ( $n = 4$ ). Одиницями є м (SL), мм (SD), м<sup>2</sup> (LA), м<sup>2</sup> г<sup>-1</sup> (SLA) і дні<sup>-1</sup> (RGR). Середні значення в рядках, за якими йдуть різні літери (a–d), значно відрізняються на рівні  $P = 0,05$  (тест ЛСД).

Time	Growth parameter	Cu treatment					ANOVA <i>P</i> -values
		0.4 $\mu$ M	20 $\mu$ M	100 $\mu$ M	500 $\mu$ M	1000 $\mu$ M	
$T_1$	SL	0.36 $\pm$ 0.07 ab	0.41 $\pm$ 0.07 a	0.29 $\pm$ 0.06 bc	0.29 $\pm$ 0.06 bc	0.20 $\pm$ 0.03 c	.0034
	SD	5.19 $\pm$ 0.63 a	6.01 $\pm$ 0.99 a	5.09 $\pm$ 0.25 a	4.93 $\pm$ 0.78 a	3.83 $\pm$ 0.74 b	.0122
	LA	0.08 $\pm$ 0.01 ab	0.11 $\pm$ 0.03 a	0.06 $\pm$ 0.02 bc	0.06 $\pm$ 0.02 bc	0.03 $\pm$ 0.00 c	.0070
	SLA	0.03 $\pm$ 0.00 ab	0.03 $\pm$ 0.00 a	0.02 $\pm$ 0.00 c	0.02 $\pm$ 0.00 bc	0.02 $\pm$ 0.00 c	.0007
	RGR	0.04 $\pm$ 0.01 a	0.05 $\pm$ 0.02 a	0.03 $\pm$ 0.01 a	0.04 $\pm$ 0.02 a	0.01 $\pm$ 0.00 b	.0236
	SL	0.64 $\pm$ 0.10 a	0.72 $\pm$ 0.02 a	0.45 $\pm$ 0.03 b	0.37 $\pm$ 0.01 bc	0.29 $\pm$ 0.05 c	.0000
$T_2$	SD	6.98 $\pm$ 1.13 a	7.73 $\pm$ 0.40 a	5.79 $\pm$ 0.55 b	5.51 $\pm$ 0.30 b	4.79 $\pm$ 0.70 b	.0002
	LA	0.23 $\pm$ 0.07 a	0.27 $\pm$ 0.03 a	0.11 $\pm$ 0.01 b	0.08 $\pm$ 0.00 b	0.05 $\pm$ 0.01 b	.0000
	SLA	0.03 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	ns
	RGR	0.06 $\pm$ 0.01 a	0.06 $\pm$ 0.00 a	0.04 $\pm$ 0.00 bc	0.03 $\pm$ 0.00 cd	0.02 $\pm$ 0.00 d	.0001

Концентрація міді в листі (рис. 1 а) була значно вищою в рослинах, вирощених при 20 мкМ Cu (10,2 мг кг<sup>-1</sup>), ніж у контрольних рослинах (7,0 мг кг<sup>-1</sup>), тоді як у рослинах, вирощених при 1000 мкМ Cu, вона зменшилася до 7,4 ppm. Концентрація міді в стеблі була подібною як у контролі, так і в оброблених рослинах (рис. 1 б). Концентрація Cu в рослинах, вирощених при 20 мкМ (7,1 мг кг<sup>-1</sup>), істотно відрізнялася лише від рослин, оброблених 1000 мкМ (5,2 мг кг<sup>-1</sup>). У коренях (рис. 1 с) концентрація Cu була приблизно в 27 разів вищою, ніж у листі та стеблі, і прогресивно зростала при підвищенні Cu. Загальний вміст Cu, виміряний у листках, стеблах і коренях, теж сильно залежав від обробки (рис. 2). У листках рослин, вирощених з 20 мкМ Cu, загальний вміст металу був вищим (0,08 мг), ніж у контролі (0,05 мг), але швидко знижувався при підвищенні Cu в розчині Хогланда. Відмінності у кількості Cu в стеблі були між контролем і рослинами, обробленими 100 мкМ Cu або вище, тоді як не спостерігалось різниці між контролем і рослинами, обробленими 20-тма мкМ Cu. У коренях загальний вміст Cu був у 4 і 20 разів вищим, ніж у листках і стеблах відповідно, і сильно

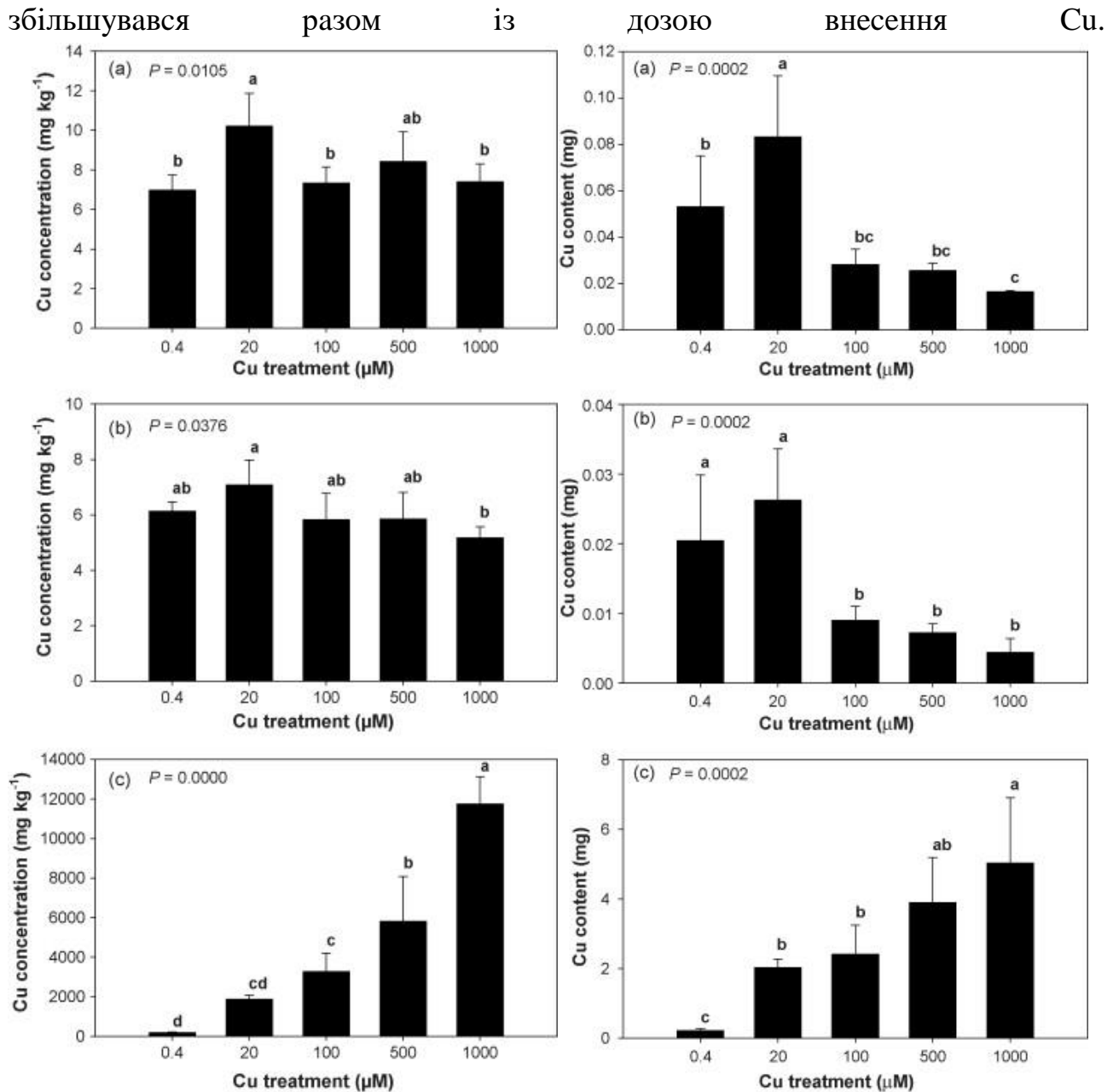


Рис. 1. Концентрація міді в листках (а), стеблі (b) і коренях (c) *P. × euramericana* клону Adda , оброблених 0,4 (контроль), 20, 100, 500 і 1000 мкМ Cu протягом 34 (Т 2) днів. Одиниці вимірювання - проміле. Значення є середніми ± стандартне відхилення ( n = 4). Стопчикки з різними літерами значно відрізняються на рівні P = 0,05 (тест ЛСД).

Рис. 2. Загальний вміст Cu в листках (а), стеблі (b) і коренях (c) *P. × euramericana* клону Adda , оброблених 0,4 (контроль), 20, 100, 500 і 1000 мкМ Cu протягом 34 (Т 2) днів. Одиницею вимірювання є мг. Значення є середніми ± стандартне відхилення ( n = 4). Стопчикки з різними літерами значно відрізняються на рівні P = 0,05 (тест ЛСД).

Вплив змін ґрунту на реакцію росту та фітоекстракційну здатність сорту верби ( *S. viminalis* × *S. schwerinii* × *S. dasyclados* ), вирощеного на забруднених ґрунтах

Це дослідження було проведено для оцінки впливу вапна та бісфосфонатів (БФ), таких як хелатні добавки N100, на ріст, фізіологічні та біохімічні параметри та фітоекстракційний потенціал сорту верби, вирощеного на ґрунтах, які сильно забруднені міддю, нікелем і цинком.

Екстраговані метали у зразках ґрунту та води наведені в таблиці 1. Виходячи зі значень втрат при спалюванні, контрольні та забруднені зразки ґрунту були багаті органічною речовиною (ОР). Кількість розчинних поживних речовин була задовільна у контрольних зразках ґрунту, але низькою у зразках забрудненого ґрунту. Це означає, що зразки ґрунту та води були сильно забруднені Cu, Zn та Ni.

Таблиця 1 . Фізико-хімічні властивості ґрунту до фітоекстракції.

	ґрунт		вода (n = 10)	
	контроль (n = 10)	забруднений (n = 20)	HGV	забруднений HGV
<b>pH</b>	5.5	5.1		4.2
<b>провідність</b>	0,29 mS/cm	0,39 mS/cm		1,1 mS/cm
<b>Мул</b>	25%	15%		
<b>Пісок</b>	23%	39%		
<b>глина</b>	52%	56%		
<b>Вміст сухої речовини</b>	80%	69%		
<b>Тип ґрунту</b>	Дрібний пісок, мулиста глина та мулиста морена			
<b>Втрата при спалюванні</b>	20% сухої речовини	10% сухої речовини		
<b>Cu</b>	30 мг кг <sup>-1</sup>	<b>1780</b> мг кг <sup>-1</sup>	200 мг кг <sup>-1</sup>	23 мг/л 2 мг/л



	грунт		вода (n = 10)		
	контроль (n = 10)	забруднений (n = 20)	HGV	забруднений	HGV
<b>Zn</b>	31 мг кг <sup>-1</sup>	<b>3200</b> мг кг <sup>-1</sup>	400 мг кг <sup>-1</sup>	74 мг/л	4 мг/л
<b>Pb</b>	25 мг кг <sup>-1</sup>	150 мг кг <sup>-1</sup>	750 мг кг <sup>-1</sup>	< DL	
<b>As</b>	20 мг кг <sup>-1</sup>	85 мг кг <sup>-1</sup>	100 мг кг <sup>-1</sup>	< DL	
<b>Cr</b>	42 мг кг <sup>-1</sup>	130 мг кг <sup>-1</sup>	300 мг кг <sup>-1</sup>	< DL	
<b>Cd</b>	8 мг кг <sup>-1</sup>	18 мг кг <sup>-1</sup>	20 мг кг <sup>-1</sup>	< DL	
<b>Ni</b>	18 мг кг <sup>-1</sup>	<b>490</b> мг кг <sup>-1</sup>	150 мг кг <sup>-1</sup>	10 мг/л	0,02 мг/л

Параметри росту (АН, суха біомаса (DB), LSA та RL) та індекси толерантності (TI) показані на рис. 1 А–Е. У повтореннях Т9, Т11, Т13 і Т15, які отримували зрошення ТW, АН, DB, RL і LSA (рис. 1) становили 7–28%, 9–18%, 10–11% і 9–на 20% нижче відповідно порівняно з відповідним контрольним повторенням (Т1, Т3, Т5 і Т7). У повторенні, яке зрошували РW, АН, DB, RL та LSA були на 5–32%, 10–23%, 11–16% і 10–24% нижчими порівняно з відповідним йому контрольним повторенням (рис. 1). Помітно, що повторення РW продемонструвало пригнічені значення параметрів росту порівняно з ТW (рис. 1). Однак ми не виявили суттєвих відмінностей між значеннями параметрів росту у змінених контрольних варіантах (Т3–Т8) і значеннях у змінених забруднених варіантах (Т11–Т16). Значення параметрів росту були значно вищими у варіантах (Т11–Т16), коли в ґрунт додавали вапно та N100 (рис. 1). У повторенні значення АН, DB, RL та LSA у варіантах ґрунту зі змінами (Т11, Т13 та Т15), які отримували зрошення ТW, зросли на 36–88%, 22–54%, 20–60% та 22–54% відповідно порівняно з ремедіацією без змін Т9. Навпаки, значення АН, DB, RL та LSA у рослин, зрошуваних РW (варіанти Т12, Т14 та Т16), зросли на 45–121%, 32–87%, 30–94% та 32–87% відповідно порівняно з їх відповідне незмінене лікування Т10. Варіанти з додатками Т3–Т8 продемонстрували покращені

значення параметрів росту порівняно з T1–T2 у контрольній групі. Комбінація обробок ґрунту вапном та N100 (T15–T16) значно збільшила значення параметрів росту порівняно з T3–T8 та T11–T14 (рис. 1).

PW трохи знизила значення ТІ порівняно з TW у варіантах ґрунту з додатками, тоді як PW знизила значення ТІ приблизно на 8% порівняно з TW у варіантами без змін. Найвище значення ТІ (0,91) було виявлено в T15, яка отримувала TW зрошення. Коли рослини зрошували PW, найвище значення ТІ (0,90) спостерігалось в T16 (рис. 1 E). Варіанти ґрунту з додатками T11–T16 значно підвищили значення ТІ порівняно з варіантами ґрунту без додатків T9–T10 у повторенні (рис. 1 E). У повторенні PW обробка ґрунту N100 T13–T14 і комбінація вапна та обробки ґрунту N100 T15–T16 трохи підвищили значення ТІ порівняно з ґрунтом з вапном (T11–12), хоча відмінностей між ними не виявлено.

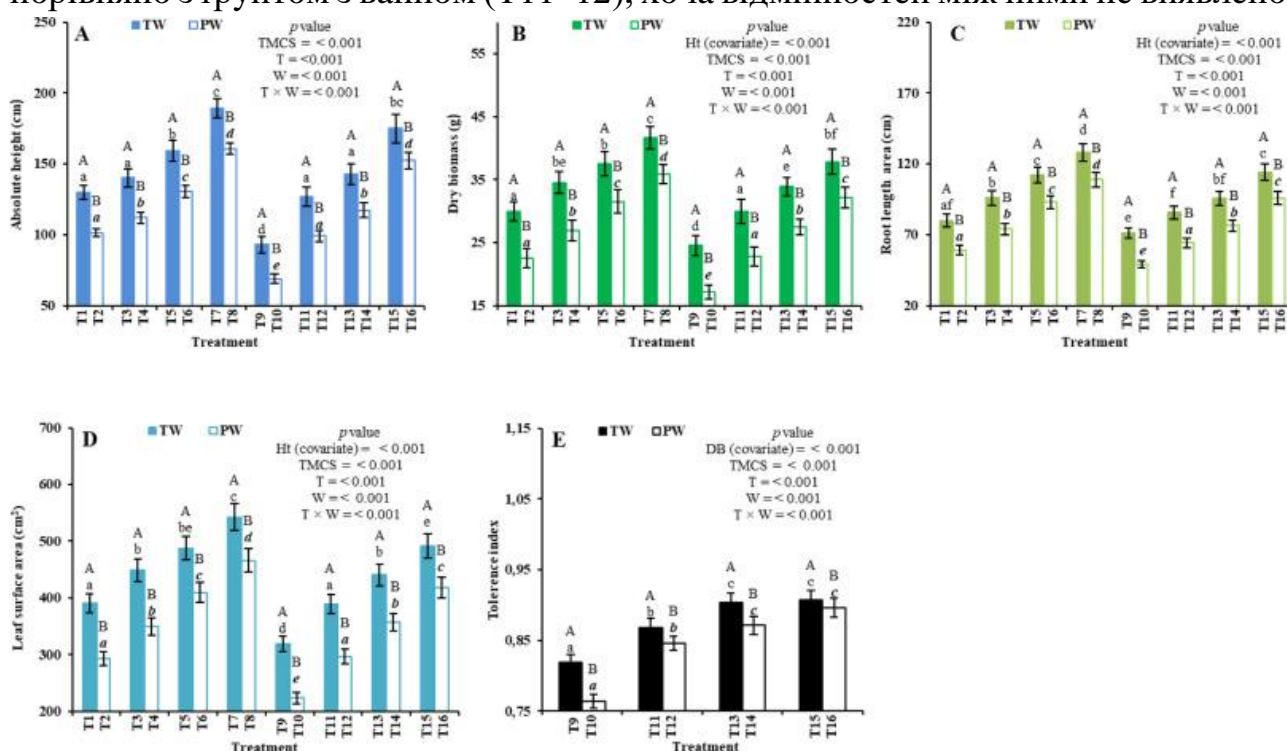


Рис. 1 . Вплив обробок на абсолютну висоту (A), суху біомасу (B), площу довжини коренів (C), площу листової поверхні (D) та індекс толерантності (E) сорту верби Klara. Дані вказують на середнє значення  $\pm$  SD (n = 6). Висота дерева (Ht), суха біомаса (DB), площа поверхні листя (LSA), загальна доступна концентрація металу (TMCS; мг кг<sup>-1</sup>) у ґрунті для рослини, обробка (T) і обробка води (W). Різні малі літери над стовпчиками вказують на значні відмінності ( $p > 0,05$ ) між дослідними варіантами ґрунту (T1, T3, T5, T7, T9, T11, T13, T15) під час обробки водопровідною та обробленою водою (TW, PW). Великі літери вказують на те, що значення істотно не відрізняються ( $p > 0,05$ ).

Повторення PW показало вищі концентрації Cu, Zn, Ni, Pb, Cr, Cd і As у листках, пагонах і коренях порівняно з TW. Рослини, що зростали на забрудненому ґрунті (T9–T16) накопичували значно вищі концентрації Cu, Zn і

Ni в листі, пагонах і коренях порівняно з контролем (Т1–Т8) в обох групах обробки водою (рис. 4), і були виявлені подібні результати для Pb, Cr, Cd і As. Дане дослідження було зосереджено на Cu, Ni та Zn, тому детально не описує інші метали. У повторенні TW забруднений ґрунт зі змінами (Т11, Т13 і Т15) збільшив середні значення концентрації Cu на 30–140% у листі (рис. 4 А), на 18–75% у пагонах (рис. 4 Б); середні значення концентрації Zn на 15–77% у листках (рис. 4 D), на 42–145% у пагонах (рис. 4 Е) та 30–42% у коренях (рис. 4 F); середні значення концентрації Ni на 12–112% у листках (рис. 4 Ж), на 25–195% у пагонах (рис. 4 Н) і на 6–68% у коренях (рис. 4 І) порівняно з відповідним варіантом забрудненого ґрунту без змін (Т9) (рис. 4). Варіант з додаванням вапна та N100 (Т15) призвела до найвищих середніх концентрацій Cu, Zn та Ni в листі, пагонах і коренях. Ми не виявили суттєвих відмінностей у накопиченні Cu в коренях між варіантами Т9, Т11, Т13 і Т15, тоді як варіант Т15 показав найвище середнє значення концентрації Zn для коренів, які отримували TW зрошення в повторенні забрудненого ґрунту зі змінами (рис. 4).

У повторенні PW середні значення концентрації Cu були на 24–125% вищими в листі (рис. 4 А) і на 3–54% у пагонах (рис. 4 В); середні значення концентрації Zn були вищими на 14–64% у листі (рис. 4 D), на 34–108% у пагонах (рис. 4 Е) та на 28–35% у коренях (рис. 4 F); середні значення концентрації Ni були на 12–117% вищими в листках (рис. 4 G), на 14–145% у пагонах (рис. 4 Н) і на 11–59% у коренях (рис. 4) вирощених рослин на забрудненому ґрунті з додатками (Т12, Т14 і Т16) порівняно з відповідним їм повторенням з забрудненим ґрунтом без змін (Т10). Варіант ґрунту з доповненнями - вапном та N100 (Т16), призвів до найвищих середніх концентрацій Cu, Zn та Ni в листі, пагонах і коренях у повторенні із забрудненим ґрунтом з додатками (Т12, Т14 та Т16). Другим є варіант ґрунту (Т14) та варіант ґрунту з додаванням вапна (Т12) відповідно, за винятком концентрації у коренях Cu та Zn (рис. 4). Для рослин, зрошуваних PW, варіанти Т12 і Т14 мали дещо знижені середні концентрації Cu в коренях порівняно з варіантом Т10, тоді як варіант Т16 мав вищу середню концентрацію Cu в коренях порівняно з варіантами Т12 і Т14. Відмінностей в накопиченні Cu в коренях між обробками Т10 і Т16 виявлено не було (рис. 4). Варіант Т16 мав найвище середнє значення концентрації Zn для коренів у повторенні забрудненого ґрунту із змінами, за яким йшли обробки Т12 і Т14 відповідно (рис. 4 F).

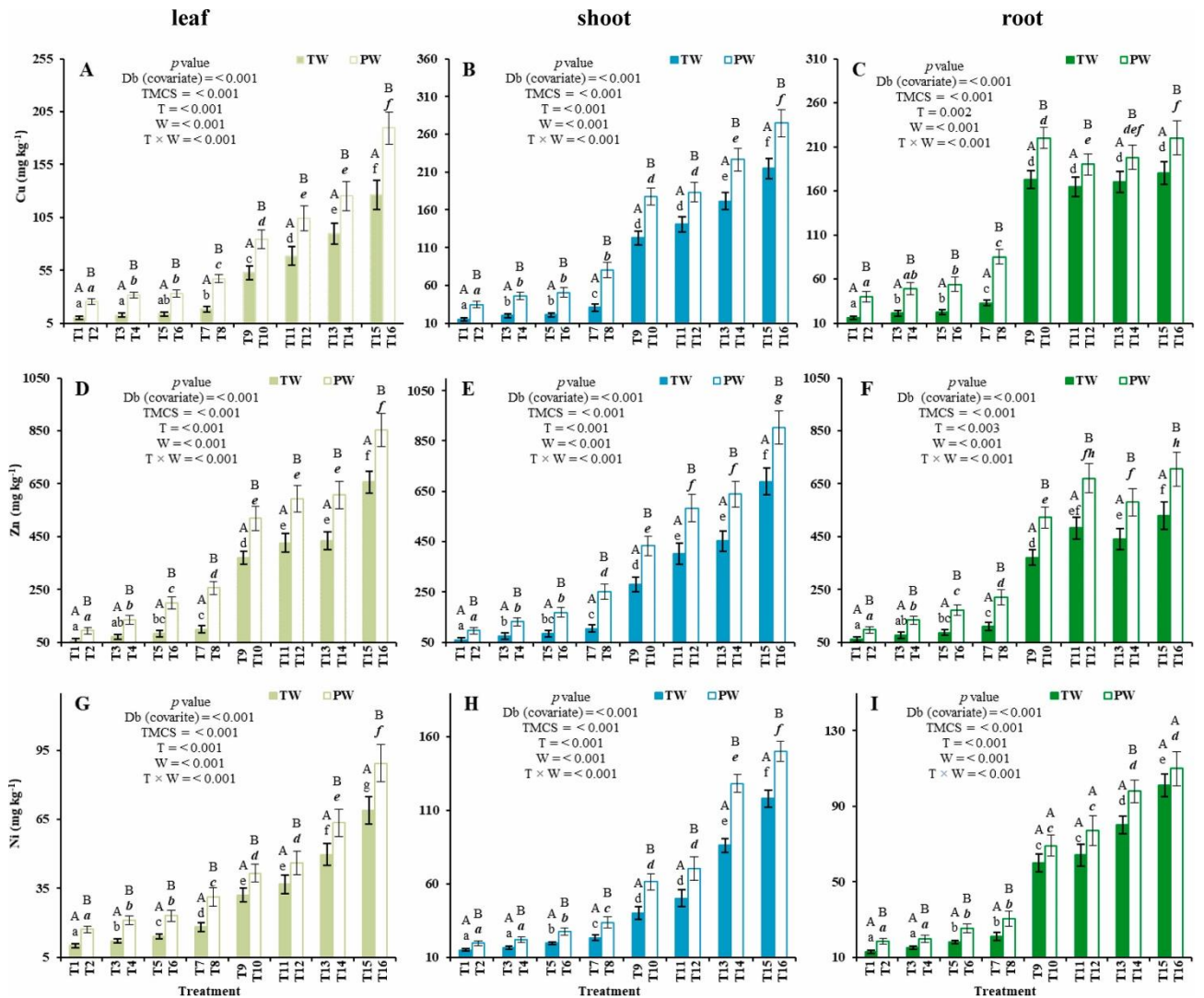


Рис. 4 . Вплив обробок (Т1–Т16) на концентрації міді (Cu), цинку (Zn) і нікелю (Ni) в сухих органах рослин (листках, пагонах і коренях) сорту верби Клара. Дані вказують на середнє значення  $\pm$  SD ( $n = 6$ ). Суха біомаса (Db), загальна доступна концентрація металу (TMCS;  $\text{mg kg}^{-1}$ ) у ґрунті для обробки рослин (Т) та обробки води (W). Різні малі літери над стовпчиками вказують на значні відмінності ( $p > 0,05$ ) між обробками ґрунту (Т1, Т3, Т5, Т7, Т9, Т11, Т13 і Т15) під час обробки водопровідною чи обробленою водою (TW, PW). Великі літери вказують на те, що значення істотно не відрізняються ( $p > 0,05$ ).

Варіанти з забрудненим ґрунтом при додаванні вапна (Т11–Т12), варіанти забрудненого ґрунту з додаванням N100 (Т13–Т14) і комбінований варіант забрудненого ґрунту з додаванням вапна та N100 (Т15–Т16) значно більше накопили Pb. Загальні концентрації Cr, Cd і As, особливо багато в варіантах Т13–Т16, порівняно варіантом забрудненого ґрунту без змін (Т9–Т10) і контрольною групою (Т1–Т8), за винятком Cr і Cd у Т11–Т12. Істотних відмінностей між загальними концентраціями Cr і Cd у варіантах Т11–Т12 і Т9–Т10 не виявлено. Варіанти Т15–Т16 продемонстрували вищі концентрації металів (Pb, Cr, Cd і As) ніж варіанти забрудненого ґрунту (Т11–Т16), після вже слідували Т13–Т14 і Т11–Т12,

Загалом РW показала вищі значення TF і BCF для всіх металів порівняно з TW (табл. 2). Значення TF і BCF для Cu, Ni і Zn були нижчими в T9–T10 порівняно з T11–T16, і подібні результати були знайдені для інших металів (тобто Pb, As, Cr і Cd). Значення TF і BCF для всіх металів були значно підвищені за рахунок додавання вапна та N100, особливо в T13–T14 і T15–T16. Варіанти T15–T16 показали вищі значення TF і BCF для всіх досліджуваних металів (Cu, Zn, Ni, Pb, Cr, Cd і As) у забрудненому ґрунті з додатками (T11–T16), за яким слідує T13–T14 і T11–T12 відповідно. Значення TF і BCF для всіх металів були значно підвищені за рахунок додавання вапна та N100, особливо для T13–T14 і T15–T16. T15–T16 показали більш високі значення TF і BCF для всіх металів, T13–T14 і T11–T12 були менш ефективними.

Оцінка використання компосту та трьох видів біовугілля для стабілізації свинцю та миш'яку за допомоги *Ailanthus altissima* (Чумак, Китайський ясен)

Ґрунт у цьому дослідженні піщаний кислий, забруднений As і Pb із середніми псевдосумарними концентраціями 539,06 і 11 453 мг кг<sup>-1</sup>, відповідно. Ці концентрації значно перевищують максимальні допустимі межі As і Pb в ґрунті (20 і 300 мг кг<sup>-1</sup>)

Концентрація Pb у СКП істотно відрізнялася між обробками (табл. IV). При T0 концентрація Pb був найвищим у КК (48 мг/л). Застосування поправок окремо або в комбінації знижували концентрацію свинцю в СКС на 84–99%. Концентрація Pb у SPW СК знизилася приблизно на 70% як у рослинних, так і в нерослих горщиках. на T36 порівняно з таким на T0 (Таблиця IV). Крім того, при T36 для нерослинних горщиків, лише РВ продемонстрував значне зниження концентрації SPW Pb (0,64 мг L<sup>-1</sup>) як порівняно з T0, що приблизно відповідало значення, отримані для двох інших обробок лише біовугіллям при T0. У T0 біовугілля або компост, окремо або в комбінації, спрацювали істотно не впливають на концентрацію SPW As (Таблиця IV). На T36, однак, усі нерослинні обробки показали значний зниження концентрації As порівняно з T0, за винятком LBСР. Нарешті, як концентрації в СКС рослинності ґрунтів (T36+V) були значно нижчими, ніж виміряні при T0 за винятком РВСР і СР.

Таблиця 4. Концентрація Pb і As у капілярній воді ґрунту у різних повтореннях на початку (T0) і в кінці (T36) горщикового експерименту з сильно забрудненим ґрунтом, в якому 10 горщиків були з *Ailanthus altissima* (+V) і три горщики були нерослинними (-V) для кожного повторення. а) СК – контроль без внесення біовугілля чи компосту; LB – застосовано біовугілля з легкої деревини; LBСР – використано біовугілля з легкої деревини та компост; НВ – застосовано біовугілля листяних порід; НВСР – застосовано біовугілля листяних видів дерев

та компост; РВ – застосовано біовугілля сосни; РВСП – соснове біовугілля та компост; СР – внесено компост. b) Середнє значення  $\pm$  стандартна похибка (n – 3). c) Маленькі літери в колонці вказують на значні відмінності між методами ремедіації, тоді як великі літери в рядку для Рb або As вказують на значні відмінності між T0, T36–V і T36+V для тієї самої ремедіації (P <0,05). d) Нижче межі виявлення (0,1 мкг/л)

Treatment <sup>a)</sup>	Pb			As		
	T0	T36–V	T36+V	T0	T36–V	T36+V
	mg L <sup>-1</sup>			µg L <sup>-1</sup>		
СК	48.00 $\pm$ 11.31 <sup>b)аА<sup>c)</sup></sup>	16.80 $\pm$ 1.60aB	14.55 $\pm$ 5.09aB	30.0 $\pm$ 3.0aA	5.0 $\pm$ 5.0bdB	0.3 $\pm$ 0.2aC
LB	0.63 $\pm$ 0.10cA	0.55 $\pm$ 0.03bcA	0.70 $\pm$ 0.09cA	30.0 $\pm$ 1.0a	BDL <sup>d)</sup>	BDL
LBCP	0.14 $\pm$ 0.30dA	0.25 $\pm$ 0.04cA	0.24 $\pm$ 0.03dA	40.0 $\pm$ 2.0aA	2.0 $\pm$ 1.0adA	3.0 $\pm$ 4.0aB
HB	0.63 $\pm$ 0.03cA	0.66 $\pm$ 0.07bA	0.77 $\pm$ 0.06cA	30.0 $\pm$ 1.0aA	0.4 $\pm$ 0.5aB	BDL
HBСP	0.17 $\pm$ 0.02dC	0.38 $\pm$ 0.02cdB	0.52 $\pm$ 0.04cA	50.0 $\pm$ 3.0aA	8.0 $\pm$ 1.0bB	BDL
PB	7.75 $\pm$ 0.63bA	0.64 $\pm$ 0.09bdB	1.16 $\pm$ 0.09bB	30.0 $\pm$ 2.0a	BDL	BDL
PBCP	0.19 $\pm$ 0.05dA	0.41 $\pm$ 0.06bcA	0.53 $\pm$ 0.07cA	30.0 $\pm$ 7.0aA	5.0 $\pm$ 1.0bdB	7.0 $\pm$ 8.0aAB
CP	5.10 $\pm$ 2.15bcdA	0.70 $\pm$ 0.28bcA	1.46 $\pm$ 0.60bcdA	20.0 $\pm$ 9.0aA	0.4 $\pm$ 0.6acB	12.0 $\pm$ 5.0aA

Суша маса рослини при біоремедіації із застосуванням біовугілля та/або компосту, суха вага коренів рослин, стебел і листя були значно вищими порівняно з такими у СК (рис. 1). Внесення біовугілля збільшило суху вагу листя в 1,5, 2,4 і 1,9 рази, а коренів в 3,9, 6,1 і 4,7 рази для LB, HB і РВ, відповідно, порівняно з СК. Серед усіх варіантів найрезультативнішим був чистий компост (СР) (коріння і листя). Крім того, сумісне застосування біовугілля та компосту відчутно не вплинуло на суху вагу кореня та стебла порівняно із застосуванням чистого біовугілля. Навпаки, суха вага листя значно збільшилася в LBCP та HBСP; У цих варіантах суха маса листя була вдвічі більшою, ніж у варіантах без компосту. Крім того, важливо зауважити, що результати сухої ваги СР були близькі до результатів HBСP.

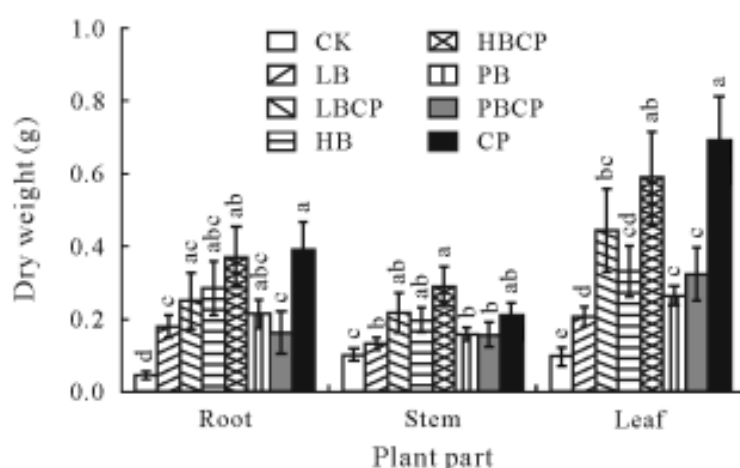


Рис. 1 Суха вага коренів, стебел і листя *Ailanthus altissima* після 36 днів росту в різних варіантах горщикового експерименту з сильно забрудненим ґрунтом. СК = контроль без біовугілля або вноситься компост; а) СК – контроль без внесення біовугілля чи компосту; LB – застосовано біовугілля з легкої деревини; LBCP – використано біовугілля з легкої деревини та компост; HB – застосовано

біовугілля листяних порід; НВСП – застосовано біовугілля листяних видів дерев та компост; РВ – застосовано біовугілля сосни; РВСП – соснове біовугілля та компост; СР – внесено компост. Стандартна похибка ( $n = 5$ ). Інші букви вказують на значні відмінності між варіантами ( $P < 0,05$ ).

Найвищі концентрації Рb завжди були в коренів порівняно зі стеблом та листям (рис. 2). Більше того, всі варіанти з біовугіллям (окремо або в поєднанні з компостом) зменшили концентрацію свинцю в коренях і стеблах. Коли біовугілля поєднували з компостом, відбувалося зменшення на 91%. І навпаки, саме по собі біовугілля призводило до 4,8-кратного збільшення концентрації свинцю в листі. Концентрація Рb в КП була на 87 % і на 93 % нижчою (в корені і стеблах відповідно), ніж у ЦК і в 3,1 рази вище в листі, ніж у СК.

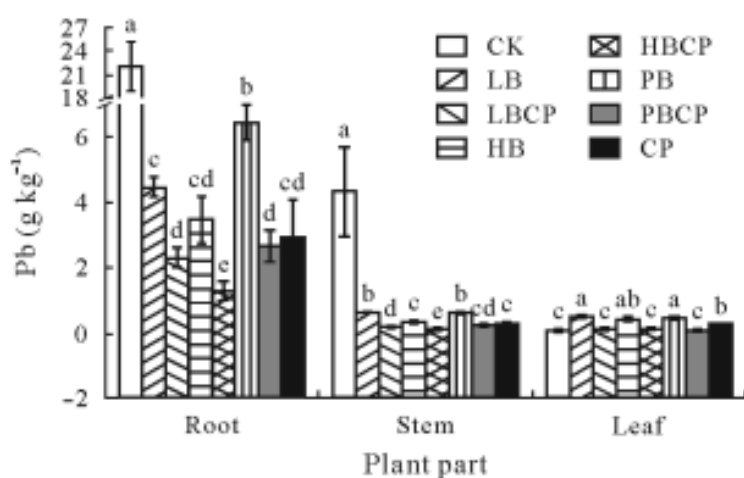


Рис. 2. Концентрації Рb в коренях, стеблах і листі *Ailanthus altissima* після 36 днів росту в різних обробках горщикового експерименту з сильно забрудненим ґрунтом. СК = контроль без біовугілля або вноситься компост; а) СК – контроль без внесення біовугілля чи компосту; LB – застосовано біовугілля з легкої деревини; LBCP – використано біовугілля з легкої деревини та компост; HB – застосовано біовугілля листяних порід; НВСП – застосовано біовугілля листяних видів дерев та компост; РВ – застосовано біовугілля сосни; РВСП – соснове біовугілля та компост; СР – внесено компост. Стандартна похибка ( $n = 5$ ). Інші букви вказують на значні відмінності між варіантами ( $P < 0,05$ ).

Найвищі концентрації As зафіксовані в коренях (рис. 3). Порівняно з СК, лише РВСП значно збільшив (у 2,9 рази) концентрацію кореневого As, тоді як біовугілля або компост поодиночі суттєво не вплинули. Порівняно з СК концентрація As в стовбурі становила 2,8, 2,9 і у 2,5 рази нижчий у LB, LBCP та HB відповідно. Крім того, концентрація стовбурового As була помітно знижена в НВСП (у 100 разів нижче, ніж у СК). Стебло As концентрація був у 21,5 та 3,9 разів нижчим у РВ та РВСП відповідно, ніж у СК. Концентрація Leaf As в LB і HB була суттєво не відрізняється від такого в СК. Проте аркуш As концентрація

знизилися в LBСР і HBСР. Крім того, лист Оскільки концентрація була в 5 разів нижчою в РВ і РВСР, ніж у СК. Подібним чином концентрація As в листі була значно нижчою у СР, ніж у СК.

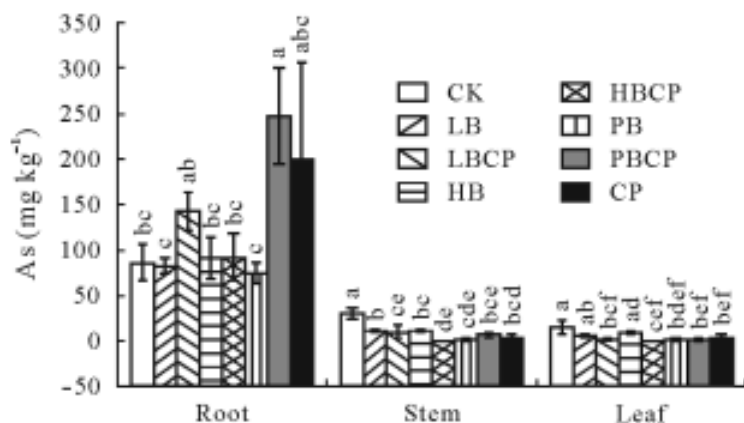


Рис. 3. Концентрація миш'яку (As) у коренях, стеблах і листі *Ailanthus altissima* після 36 днів росту при різних обробках. Горщиковий експеримент із сильно забрудненим ґрунтом. СК = контроль без біовугілля або вноситься компост; а) СК – контроль без внесення біовугілля чи компосту; LB – застосовано біовугілля з легкої деревини; LBСР – використано біовугілля з легкої деревини та компост; HB – застосовано біовугілля листяних порід; HBСР – застосовано біовугілля листяних видів дерев та компост; РВ – застосовано біовугілля сосни; РВСР – соснове біовугілля та компост; СР – внесено компост. Стандартна похибка (n – 5). Інші букви вказують на значні відмінності між варіатами (P < 0,05).

Дерево-піонер *Betula pendula*, що росте на хвостосховищі червоного гіпсу, містить специфічну структуру та склад прикореневої мікробної спільноти

Таблиця 1 і 2 представляють макро- та мікроелементи ґрунту і листя. Ґрунти мали сильно лужний рН (від 7,8 до 10). Основними елементами, що вилучаються CaCl<sub>2</sub>, були Mg > K > Fe > Mn > P > Cu, і чітко спостерігався зв'язок між рН ґрунту та Mn і Fe, що вилучаються CaCl<sub>2</sub>. Інформація з таблиці 2 свідчить про накопичувальну здатність Mn *B. pendula*, показуючи найвищі в листі рівні концентрації Mn (до 570 мг кг<sup>-1</sup>). Крім того, це накопичення не було пов'язане з місцем росту (ані з рН, ані з CaCl<sub>2</sub>-вилученою кількістю Mn). Рослини також мали тенденцію до накопичення вищої концентрації P у своїх листках порівняно з іншими видами рослин, що ростуть у тих самих точках відбору, хоча ця різниця не була суттєвою (таблиця 2).

Таблиця 1 Результати кількісного вимірювання металів, здійснене з використанням CaCl<sub>2</sub>, кількість поживних речовин та значення рН.

---

**Концентрації, екстраговані CaCl<sub>2</sub> (мг кг<sup>-1</sup>)**

---



	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>pH_</b> <b>H2O</b>
							7.8
<i>B. pendula</i>	12.5 ±0.5 a	1286 ±188 ab	2066 ±111 a	17863 ±4249 a	120.8 ±15.5 ab	51.7 ±3.5 a	±0.0 a
<i>P. tremula-</i> <i>B.pendula</i> (Pt)	12.7 ±0.8 a	1353 ±208 ab	2368 ±174 a	27242 ±3724 a	130.3 ±15.9 ab	48.3 ±3.9 a	7.7 ±0.0 a
<i>aP. nigra-</i> <i>B.pendula</i> (Pn)	14.6 ±0.4 ab	2052 ±509 b	2276 ±121 a	24703 ±3659 a	195.0 ±48.4 b	48.4 ±2.8 a	7.6 ±0.0 a
<i>S. purpurea-</i> <i>B.pendula</i> (Sp)	19.1 ±2.5 b	464 ±165 a	2868 ±349 a	23249 ±6007 a	50.6 ±16.2 a	56.8 ±5.0 a	10 ±0.7 a

**Таблиця 2 Концентрація металу та поживних речовин в листі у різних досліджуваних рослин (мг кг<sup>-1</sup>)**

<b>Концентрація в листі (мг кг<sup>-1</sup>)</b>									
	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>
<i>B. pendul</i> <i>a</i>	13412 ±720 a	0.8 ±0.1 ab	7.3 ±0.3 ab	1466 ±133 b	4560 ±449 a	4673 ±252 a	371.8 ±25.4 b	454.1 ±44.7 a	280.1 ±28.4 ab
<i>P. tremul</i> <i>a</i>	15961 ±1447 a	1.1 ±0.1 b	9.2 ±1.7 b	1340 ±155 b	3688 ±366 a	4852 ±527 a	304.7 ±24.4 ab	368.3 ±27.0 a	170.2 ±22.1 a
<i>B. pendul</i> <i>a</i> (Pt)	15046 ±1110 a	0.8 ±0.2 a	6.3 ±0.4 ab	1021 ±138 b	4194 ±319 a	4709 ±324 a	479.2 ±66.8 bc	530.2 ±57.4 ab	267.3 ±37.5 ab
<i>P. nigra</i>	15853 ±937 a	0.6 ±0.1 a	4.8 ±0.5 a	292 ±48 a	4115 ±580 a	4839 ±282 a	124.4 ±9.2 a	635.4 ±75.2 ab	193.2 ±22.4 a

<i>B. pendula</i> (Pn)	16762 ±944 a	0.8 ±0.1 ab	6.2 ±0.3 ab	1112 ±153 b	5046 ±477 a	4972 ±320 a	570.5 ±72.4 c	790.1 ±99.4 b	384.2 ±23.9 bc
<i>S. purpurea</i>	21790 ±1838 b	0.7 ±0.1 ab	5.7 ±0.3 b	180 ±33 a	4023 ±372 a	6310 ±679 a	144.4 ±19.6 a	480.5 ±30.3 a	283.2 ±54.7 ab
<i>B. pendula</i> (Sp)	14415 ±603 a	0.6 ±0.1 a	5.3 ±0.2 a	346 ±51 a	3991 ±266 a	5244 ±385 a	495.9 ±56.2 bc	566.1 ±71.5 ab	448.2 ±34.3 c

### Оцінка та актуальність частки кори у вербостані

Дослідження проводили на плантації верби, закладеній живцями *Salix viminalis* (клон 77–683) на відстані 0.7 на 0.7 м. Ґрунт являв собою глинистий осад із верхнім шаром 50 см післяльодовикової важкої глини зі значеннями рН близько 7,3 і з задовільним вмістом поживних речовин. Насадження удобрювали відповідно до концепції відносної норми додавання, розробленої Інґестадом. Змішували 93,3 кг KNO<sub>3</sub>, 26,1 кг NH<sub>4</sub> H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 98,5 кг NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub>, 34,6 кг MgSO<sub>4</sub> і всіх необхідних мікроелементів на 1000 л води внесеного розчинного добрива. Відбирали 5-річні пагони на 12-річних коренях. Насадження висаджено на висоті 5–10 см.

Найбільші відмінності в концентраціях елементів виявлено між корою та деревиною: кора, порівняно з деревиною, мала значно вищі концентрації N, P, K, Mg, Ca, Cd, Pb, Co та Zn (таблиці 1 і 2). Зверніть увагу, що Cd і Pb були єдиними важкими металами, які були знайдені в значно вищих концентраціях у корі, ніж у деревині. Гілочки, як правило, мали вищі концентрації N, P, K, Mg, Cu та Zn, ніж старші частини пагонів (ефект AGE, таблиці 1 і 2). Концентрації Ca, Cd, Cr, Hg, Pb, Ni, Co та Si у шматках зразків суттєво не змінювалися з віком.

Не було кореляції між діаметром шматка зразка та його концентрацією елементів, за винятком концентрації калію в корі. Чим тонші шматочки кори зразка, тим вищою була їх концентрація K.

Таблиця 1 . Середні концентрації (+/-SD; n = 8) елементів у зразках (p < 0.05)

Tissue/age (yr)	Macronutrients (mg/g)					
	N	P	K	Mg	Ca	
<i>BARK</i>						
Twigs	10.89 ± 3.16 <sup>a</sup>	1.56 ± 0.48 <sup>a</sup>	9.56 ± 2.24 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.14 <sup>a</sup>	16.96 ± 2.36 <sup>a</sup>	
Branches, 3	7.87 ± 2.78 <sup>b</sup>	1.08 ± 0.47 <sup>b</sup>	7.39 ± 2.35 <sup>a,b</sup>	0.69 ± 0.15 <sup>c</sup>	18.15 ± 2.56 <sup>a</sup>	
4	8.66 ± 2.74 <sup>b</sup>	1.12 ± 0.46 <sup>a,b</sup>	7.18 ± 2.32 <sup>a,b</sup>	0.85 ± 0.15 <sup>a,b</sup>	18.88 ± 2.75 <sup>a</sup>	
5	7.76 ± 2.68 <sup>b</sup>	1.08 ± 0.45 <sup>b</sup>	6.76 ± 2.45 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.14 <sup>b,c</sup>	15.66 ± 2.77 <sup>a</sup>	
<i>WOOD</i>						
Twigs	3.23 ± 1.19 <sup>c</sup>	0.53 ± 0.24 <sup>c</sup>	2.33 ± 0.79 <sup>c</sup>	0.25 ± 0.06 <sup>d,e</sup>	2.63 ± 0.63 <sup>b</sup>	
Branches, 3	2.06 ± 0.94 <sup>d</sup>	0.35 ± 0.18 <sup>d</sup>	1.85 ± 0.61 <sup>c,d</sup>	0.18 ± 0.05 <sup>e</sup>	1.90 ± 0.59 <sup>b</sup>	
4	2.40 ± 0.95 <sup>d</sup>	0.23 ± 0.18 <sup>d</sup>	1.88 ± 0.62 <sup>c,d</sup>	0.25 ± 0.05 <sup>d</sup>	2.68 ± 0.85 <sup>b</sup>	
5	2.09 ± 1.02 <sup>d</sup>	0.31 ± 0.19 <sup>d</sup>	1.61 ± 0.68 <sup>d</sup>	0.23 ± 0.06 <sup>d,e</sup>	2.25 ± 0.84 <sup>b</sup>	
Heavy metals (mg/kg)						
	Cd	Cr	Pb	Hg		
<i>BARK</i>						
Twigs	1.13 ± 0.34 <sup>a,b</sup>	2.4 ± 3.7 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.50 <sup>a,b</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
Branches, 3	1.07 ± 0.32 <sup>a,b</sup>	2.0 ± 3.8 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.89 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
4	1.15 ± 0.32 <sup>a</sup>	1.7 ± 3.8 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.94 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
5	0.90 ± 0.31 <sup>b</sup>	2.7 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.88 <sup>a,b</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
<i>WOOD</i>						
Twigs	0.35 ± 0.08 <sup>c</sup>	3.1 ± 12.6 <sup>a</sup>	0.20 ± 5.21 <sup>a,b</sup>	0.04 ± 0.0067 <sup>a</sup>		
Branches, 3	0.29 ± 0.08 <sup>c</sup>	2.5 ± 12.4 <sup>a</sup>	0.12 ± 5.10 <sup>b</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
4	0.33 ± 0.08 <sup>c</sup>	4.1 ± 12.3 <sup>a</sup>	0.20 ± 5.00 <sup>a,b</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
5	0.28 ± 0.08 <sup>c</sup>	3.1 ± 11.4 <sup>a</sup>	0.30 ± 4.59 <sup>a,b</sup>	0.03 ± 0.0001 <sup>a</sup>		
Micronutrients and beneficial elements (mg/kg)						
	Cu	Zn	Ni	As	Co	Si
<i>BARK</i>						
Twigs	5.6 ± 2.9 <sup>c,d</sup>	91.5 ± 19.4 <sup>a</sup>	3.31 ± 1.81 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.0001 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.14 <sup>a</sup>	21.5 ± 7.3 <sup>a</sup>
Branches, 3	4.6 ± 2.6 <sup>b,c,d</sup>	74.6 ± 21.1 <sup>a</sup>	3.36 ± 2.00 <sup>a</sup>	0.035 ± 0.007 <sup>a,b</sup>	0.70 ± 0.15 <sup>a</sup>	18.9 ± 6.9 <sup>a</sup>
4	3.9 ± 2.6 <sup>a,b,c</sup>	91.1 ± 19.1 <sup>a</sup>	3.24 ± 2.04 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.007 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.17 <sup>a</sup>	18.5 ± 6.9 <sup>a</sup>
5	3.6 ± 2.6 <sup>a,b</sup>	75.7 ± 19.6 <sup>a</sup>	3.50 ± 1.92 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.16 <sup>a</sup>	17.5 ± 6.9 <sup>a</sup>
<i>WOOD</i>						
Twigs	6.1 ± 5.2 <sup>d</sup>	15.5 ± 6.0 <sup>b</sup>	2.97 ± 5.67 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.011 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.20 <sup>b</sup>	17.3 ± 6.7 <sup>a</sup>
Branches, 3	3.1 ± 4.1 <sup>a</sup>	9.6 ± 4.6 <sup>b</sup>	3.33 ± 5.59 <sup>a</sup>	0.038 ± 0.012 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.20 <sup>b</sup>	16.0 ± 16.5 <sup>a</sup>
4	3.6 ± 4.1 <sup>a,b</sup>	8.7 ± 5.3 <sup>b</sup>	5.95 ± 5.55 <sup>a</sup>	0.035 ± 0.007 <sup>a,b</sup>	0.24 ± 0.20 <sup>b</sup>	16.5 ± 16.4 <sup>a</sup>
5	3.4 ± 4.4 <sup>a,b</sup>	8.3 ± 6.0 <sup>b</sup>	3.30 ± 5.18 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.011 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.18 <sup>b</sup>	15.2 ± 15.0 <sup>a</sup>

Таблиця 2. Підсумок результатів дисперсійного аналізу впливу виду тканини (кора, деревина), AGE та вплив взаємодії тканина\*AGE на концентрації елементів у зразках

<i>Macronutrients</i>						
Factor	df	N-tot	P	K	Mg	Ca
$R^2$		0.83	0.73	0.85	0.93	0.97
AGE	3	0.003	0.012	0.016	0.0001	Ns.
TISSUE	1	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
TISSUE*AGE	3	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.
Error	56					

<i>Heavy metals</i>					
Factor	df	Cd	Cr	Pb	Hg
$R^2$		0.86	0.06	0.31	0.11
AGE	3	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.
TISSUE	1	<0.0001	Ns.	<0.0001	Ns.
TISSUE*AGE	3	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.
Error	56				

<i>Micronutrients and beneficial elements</i>							
Factor	df	Cu	Zn	Ni	As	Co	Si
$R^2$		0.22	0.92	0.06	0.21	0.69	0.07
AGE	3	0.014	0.03	Ns.	0.029	Ns.	Ns.
TISSUE	1	Ns.	<0.0001	Ns.	Ns.	<0.0001	Ns.
TISSUE*AGE	3	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.	Ns.
Error	56						

Базуючись на розподілі частоти діаметрів популяції пагонів (рис. 2) і хімічних аналізах фракцій пагонів, було оцінено, що стояча біомаса у SRWC містила 159 кг N га<sup>-1</sup>, 22 кг P га<sup>-1</sup>, і 131 кг K га<sup>-1</sup> (таблиця 3).

Таблиця 3 . Розрахований вміст елементів у надземній біомасі досліджуваної верби з повним урожаєм через 5 років. 47.9 т DM га<sup>-1</sup>

	kg ha <sup>-1</sup>				
	N	P	K	Mg	Ca
Bark	74.6	10.2	65.1	6.9	152.0
Wood	84.1	11.7	65.8	8.8	89.7
Total	158.7	21.9	130.9	15.7	241.7

	g ha <sup>-1</sup>			
	Cd	Cr	Pb	Hg
Bark	9.0	21.1	5.6	0.3
Wood	11.2	126.3	10.3	1.2
Total	20.2	147.4	15.9	1.5

	g ha <sup>-1</sup>					
	Cu	Zn	Ni	Co	As	Si
Bark	36.2	723.2	30.7	5.6	0.3	165.3
Wood	134.4	333.6	148.7	7.4	1.5	603.1
Total	170.6	1056.8	179.4	13.0	1.8	768.4

## Дослідження фізіологічної реакції тополі та верби на гетерогенну підвищену експозицію цинку

Неоднорідність іонів у ґрунті може суттєво впливати на ріст рослин (Hodge, 2006; Hutchings et al., 2003). Експерименти з розщепленим коренем продемонстрували як локальні, так і системні зміни в зростанні та накопиченні важких металів після гетерогенного впливу на кореневу систему. Часткова обробка Cd, Cu та Zn пригнічує ріст коренів (Khare et al., 2016 ; Marino et al., 2013). У не смертельних концентраціях спостерігається системна індукція механізму антиоксидантного захисту навіть за відсутності окисного пошкодження після прямого впливу (Marino et al., 2013). Однак за більших концентрацій в подразнених коренях швидко виробляються активні форми кисню та фітогормони, діючи як мобільні сигнали, які призводять до перерозподілу біомаси на користь необроблених коренів та запобігання поглинанню важких металів (Khare et al., 2016 ; Luo et al., 2016 ; Vochicchio et al., 2015 ; Nan et al., 2013 ; Remans et al., 2012). Є деякі дані, які свідчать про те, що перерозподіл біомаси, викликаний частковим впливом на корені важкими металами, може фактично збільшити виробництво біомаси та загальне накопичення важких металів у деяких рослинах. В експерименті, в якому порівнювали однорідний і гетерогенний розподіл Cd і Zn разом і окремо, Podar et al. (2004) виявили збільшення конкурентного поглинання Zn порівняно з Cd у *Brassica juncea* в гетерогенних умовах Zn. Біомаса пагонів і поглинання цинку також були більшими, зокрема, при гетерогенній обробці з підвищеним вмістом цинку, ніж при обробці гомогенним цинком або кадмієм. Ці експерименти демонструють, що за порогових значень швидкість росту та накопичення ресурсів неекспонованої частини може бути достатнім для компенсації зменшення подразненої частини кореневої системи, а в деяких випадках може перевершувати контрольні рослини.

У цьому дослідженні була використана система розділеного кореня, щоб дослідити вплив гетерогенності стресу Zn на ріст тополі та верби, поглинання Zn, фізіологію надземних тканин і споживання води окремими рослинами, які відчують різну концентрацію Zn на кореневому рівні.

Щоб перевірити вплив неоднорідного впливу підвищеного Zn на фізіологію коренів і пагонів рослин, був використаний гідропонний експеримент з розщепленим коренем.

Випробування проводили в теплиці із середньою денною/нічною температурою протягом експериментального періоду 28/18 °C, природним освітленням (інтенсивність досягає 800 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> у сонячні дні) і середньою вологістю 60 ± 5 %. Сплячі живці раніше зберігалися при 2 °C після їх збору в кінці

попереднього вегетаційного періоду. Щоб створити «розділений» характер експерименту, відрізок довжиною 5 см був рівномірно розділений на одному кінці кожного черешка та розміщений на прикріплених краях двох пластикових контейнерів

Щоб стимулювати укорінення, контейнери спочатку наповнювали дистильованою водою. Після появи коренів з обох половин усіх живців контейнери знову наповнювали розчинами для росту, таким чином встановлюючи три рівні обробки на основі модифікованого (1/4 міцності) розчину Хогланда (Hoagland and Arnon, 1950 ) та наявності/відсутності додаткового 1 мМ  $ZnSO_4$ . Уніфікована контрольна обробка складалася лише з розчину Хогланда в обох контейнерах. Нерівномірна обробка напруги Zn була створена за допомогою розчину Хогланда в одній половині та розчину Хогланда +1 мМ  $ZnSO_4$  в іншій, і однорідного напруги Zn за допомогою Хогланда +1 мМ  $ZnSO_4$  в обох.

Експеримент проводився протягом 49 днів, і в цей момент тополя та верба зазнали значних негативних наслідків обробки підвищеним вмістом цинку, про що свідчить хлороз і некроз старих листків (Marschner, 2012).

Додавання Zn до поживного розчину половини кореневої системи у тополі та верби призвело до різних результатів (табл.1). Суха вага коренів тополі зменшилася на третину, суха вага стебла та листя – більш ніж на 50% у порівнянні з контролем. Коренева маса верби із розділеним корінням перевищила контроль, а стебла та листя зрівнялися з контролем за масою. У верби стимулювався ріст коріння у чистому розчині і різко гальмувався ріст у забрудненому. На відмінну від верби, у тополі більше ресурсів переміщувалося до листя, ніж до незабрудненої частини коріння(табл.1). У верби біомаса стебла була приблизно однакова в усіх трьох варіантах, а у тополі вона знизилася з 0,36 у варіанті із розділеним корінням, до 0,21 у рослинах із повним стресом. Коріння обох видів продемонструвало значне зниження виділення карбону. Через 21 день почалося припинення росту обидвох видів у варіантах із повним забрудненням. Висота стебел тополі була більш чутливою до часткової обробки Zn, хоча обидві рослини, вирощені в гетерогенному розчині, продемонстрували зниження швидкості росту стебла порівняно з контрольними рослинами. Тополя та верба, що перебувають у напівстресовому стані, почали дещо відрізнятися у швидкості росту стебла від контрольних стебел приблизно через 28 днів, причому стебла тополі знову були більш чутливими. Діаметр стебла обох рослин у напівстресовому стані не значно відрізнявся від контролю, але суцільне забруднення відчутно впливало на цей показник.

Таблиця 1. Параметри росту тополі та верби. Вплив розчину (Sol), виду (Sp) і взаємодії (Sol x Sp) аналізували за допомогою 2-факторного дисперсійного аналізу; значення  $p$  наведено під кожним фактором. Різні літери вказують на значні відмінності між групами лікування при значеннях  $p < 0,05$ , визначено пост-гок тестом Tukey HSD.

Види	Розділена коренева біомаса		Загальна коренева біомаса (г DW)		Масова частка
		(г DW)		(г DW)	
Тополя	КОНТРОЛЬ	6,9 ± 1,3 b	КОНТРОЛЬ	6,9 ± 1,3 bc	0,16 ± 0,01 ab
	Половина контроль	- 4,6 ± 2,2 bc	половина	4,9 ± 2,3 bc	0,20 ± 0,06 ab
	Половина +Zn	- 0,3 ± 0,1 c	Повний	0,2	0,05 ± 0,01 b
	Повний	0,2			
	Середній	3,0 B	Середній	4,0 B	0,14
Верба	КОНТРОЛЬ	15,2 ± 0,7 a	КОНТРОЛЬ	15,2 ± 0,7 a	0,22 ± 0,02 ab
	Половина контроль	- 19,2 ± 2,3 a	половина	19,7 ± 2,2 a	0,25 ± 0,01 a
	Половина +Zn	- 0,4 ± 0,1 c	Повний	0,7 ± 0,1 c	0,07 ± 0,01 b
	Повний	0,7 ± 0,1 bc			
	Середній	8,9 A	Середній	11,9 A	0,18
ANOVA значення p	Sol	< 0,001	Sol	< 0,001	Sol < 0,001
	Sp	< 0,001	Sp	< 0,001	Sp 0,127
	Sol x Sp	< 0,001	Sol x Sp	0,002	Sol x Sp 0,801

види		Стовбурова біомаса	Листова біомаса	Діаметр стебла	Висота стебла		
		(г DW)	(г DW)	(мм)	при зборі врожаю (см)	Масова частка листя	Масова частка стебла
Тополя	КОНТРОЛЬ	16,1 ± 3,2 <i>ab</i>	21,5 ± 4,9 <i>ab</i>	9,5 ± 1,1 <i>a</i>	109 ± 6,6 <i>b</i>	0,48 ± 0,03 <i>b</i>	0,364 ± 0,04 <i>ab</i>
	половина	6,5 ± 1,3 <i>bc</i>	10,6 ± 1,9 <i>bc</i>	8,2 ± 0,4 <i>a</i>	81 ± 3,4 <i>c</i>	0,50 ± 0,04 <i>b</i>	0,30 ± 0,03 <i>ab</i>
	Повний	0,9 ± 0,1 <i>c</i>	3,9 ± 1,4 <i>c</i>	4,2 ± 0,3 <i>б</i>	42 ± 2,1 <i>d</i>	0,74 ± 0,07 <i>a</i>	0,21 ± 0,06 <i>б</i>
	Середній	7,8 В	12,0 В	7.3 Б	77 В	0,57 А	0,29 В
Верба	КОНТРОЛЬ	33,2 ± 6,2 <i>ab</i>	23,0 ± 2,1 <i>a</i>	10,6 ± 0,6 <i>a</i>	144 ± 1,2 <i>a</i>	0,33 ± 0,02 <i>b</i>	0,46 ± 0,03 <i>a</i>
	половина	33,7 ± 0,9 <i>a</i>	24,5 ± 2,2 <i>a</i>	9,2 ± 1,2 <i>a</i>	128 ± 4,4 <i>a</i>	0,31 ± 0,01 <i>b</i>	0,44 ± 0,02 <i>a</i>
	Повний	5,1 ± 0,5 <i>c</i>	5,2 ± 1,9 <i>c</i>	6,5 ± 0,3 <i>б</i>	79 ± 3,1 <i>c</i>	0,44 ± 0,11 <i>b</i>	0,49 ± 0,10 <i>a</i>
	Середній	24,0 А	17,6 А	8,8 А	117 А	0,36 В	0,46 А
ANOVA значення р	Sol	< 0,001	< 0,001	0,039	< 0,001	0,004	0,499
	Sp	< 0,001	0,0089	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	Sol x Sp	0,017	0,036	0,697	0,292	0,346	0,166



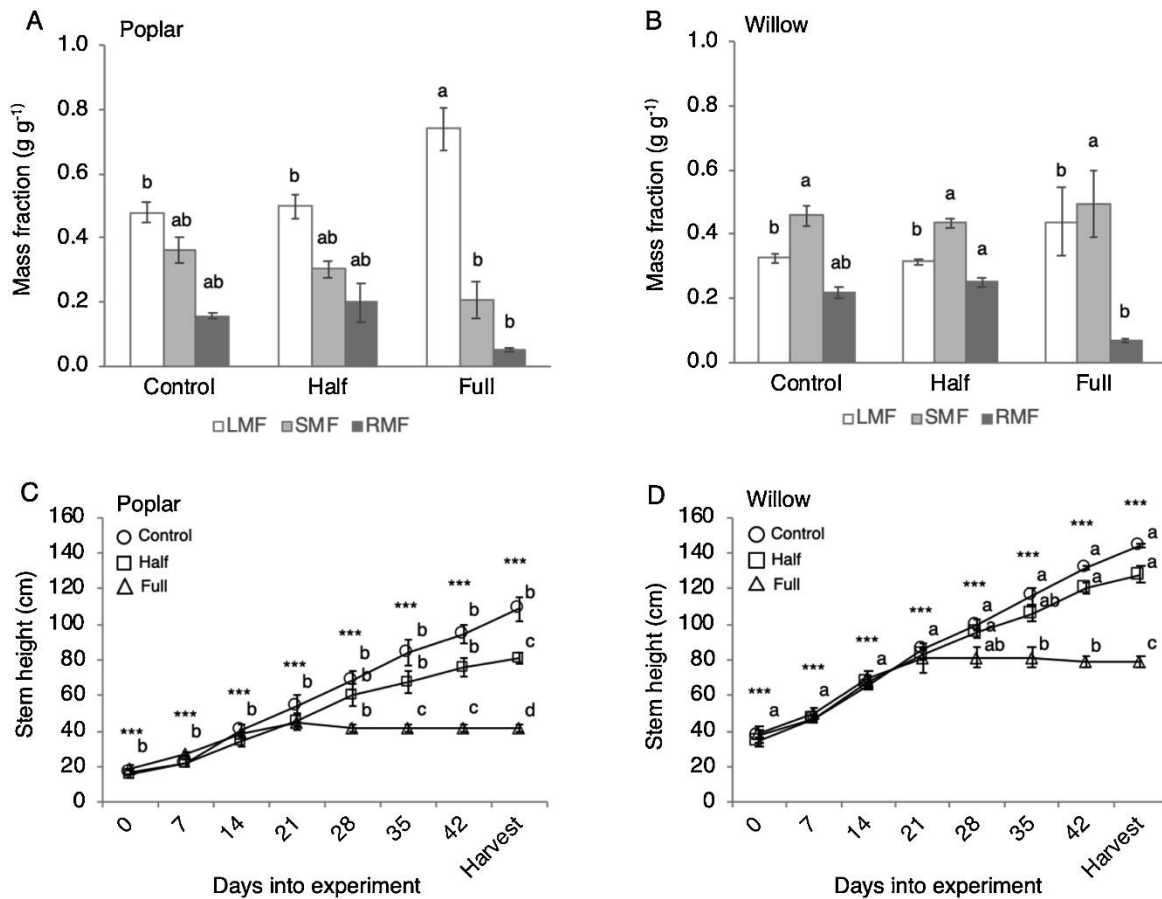
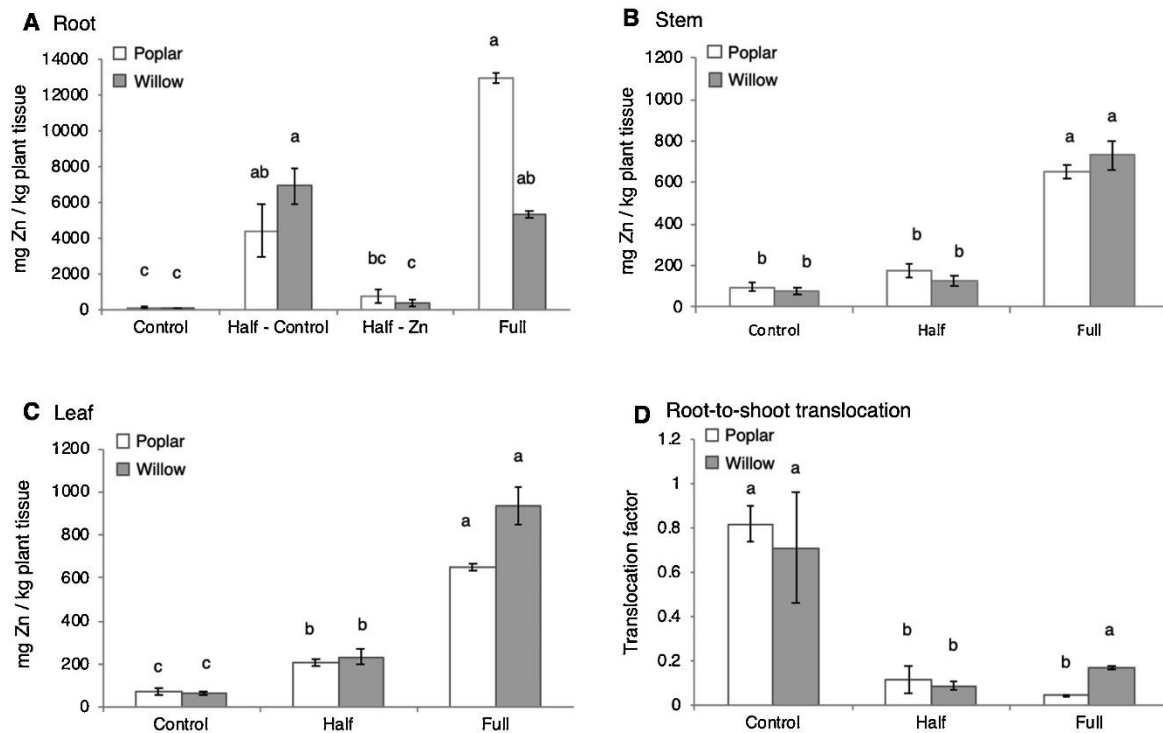


Рис. 1. Зміна висоти стебла внаслідок часткової та повної обробки Zn та розподіл карбону. Масові частки листя, стебла та коріння А) тополі та В) верби (LMF, SMF та RMF) відповідно. Вимірювання висоти стебла С) тополі та D) верби (см) на 49 день. Значення Р, що описують значні відмінності між видами, були визначені двостороннім дисперсійним аналізом і представлені зірочками над окремими точками часу: \* < 0,05, \*\* 0,01 – 0,05, \*\*\* < 0,001. Різні літери вказують на значні відмінності між групами лікування при значеннях  $p < 0,05$ . Стовпці та точки даних є середніми для  $n = 4$  зі стандартними смужками похибок.

Накопичення Zn відбувається як і у випадку застосування висококонцентрованого розчину Zn до половини коренів, так і до всього. Накопичення відбувається і в коренях (рис.6А), і в листі (рис.6С), і тополі, і верби. Контрінтуїтивно, але у рослин із розділеним коренем більше Zn накопичила половина коренів у чистому розчині, коли та половина коренів, що була у забрудненому розчині, накопичила Zn лише трохи більше, ніж рослини з контрольним розчином. Коріння тополі при повному стресі накопичило більше ніж удвічі більше Zn, ніж корені верби (13 006 і 5373 мг/кг відповідно). Накопичення цинку в стеблах тополі та верби з розділеним корінням було лише трохи вищим, ніж у контрольних рослин ( рис. 6 В). У листках тополі та верби з розділеним корінням Zn накопичено більше, ніж у листках контрольних рослин (220 % та 211 % відповідно), і на 65 % та 78 % менше, ніж у листках тополі та верби під повним стресом. Контрольні рослини продемонстрували майже

рівномірний розподіл Zn між коренями та пагонами. Рослини, які зазнали повного стресу накопичили більшу частину Zn в коренях рослин. Рослини з розділеним корінням накопичили більшість Zn у коренях, що перебували у чистому розчині.



Мал. 6 . Вміст цинку в коренях і листі після підвищеного впливу Zn на половину, всю кореневу систему, або відсутності впливу. А) Вміст цинку в корені (мг Zn кг<sup>-1</sup> сух. рос. тканини). В) Вміст цинку в стеблі (мг Zn кг<sup>-1</sup> сух. рос. тканини). С) Вміст цинку в листі (мг Zn кг<sup>-1</sup> сух. рос. тканини). D) Фактор транслокації Zn від кореня до пагона. Стовпці представляють середнє значення n = 4 зі стандартними стовпчиками похибок. Відмінності між групами оцінювали за допомогою тесту Тьюкі HSD і позначали різними літерами.

У той час як повністю забруднений розчин викликав серйозне зниження росту в обох видів, частково забруднений розчин призвів до зниження біомаси пагонів і коренів у тополі. Гетерогенна обробка Zn не змінила параметрів росту пагонів верби, але стимулювала значне збільшення біомаси коренів. Обидві рослини продемонстрували реакцію уникнення важких металів. Корені, що піддаються впливу підвищених концентрацій припиняють рости й ресурси рослини інвестуються у ріст коренів в менш забруднені ділянки ґрунту.

Варіативність росту та здатності до накопичення кадмію серед гібридів верби: зауваження до відбору ефективних щодо Cd сортів на основі їхньої врожайності

Ціль експерименту полягала у порівнянні сімнадцяти сортів верби та визначенні, які з них найліпші для біоремедіації та виробництва біопалива.

Рослини вирощували в умовах гідропоніки в теплиці, і порівнювали їх здатність до толерантності та накопичення Cd. Живці по 25 см були розміщені у контейнерах для гідропонного вирощування. Концентрація Cd - 10 мкМ і 30 мкМ. Використовували 0,25-кратний розчином Хогланда з рН 5,5–6,0. Рослини вирощували в тепличних умовах з температурою від 20 до 25 °С і природним фотоперіодом протягом трьох тижнів.

Більшість сортів верби, випробуваних у цьому експерименті, вижили під впливом обох концентрацій Cd; однак лише 50% сорту Pur12 і 25% FC190 вижили при високій концентрації Cd. Тест ANOVA (Таблиця 1) показав, що відмінності між сортами та обробкою впливали на довжину пагонів ( $p < 0,001$ ), тоді як взаємодії між сортом та обробкою не було. Отже, всі протестовані сорти, у плані росту в висоту, реагували на обробку Cd подібним чином. Зменшення довжини пагона спостерігалось у більшості сортів, в обох концентраціях Cd, і це зменшення було більшим за вищої концентрації Cd (рис. 1-А), однак єдину суттєву різницю у кінці експерименту зафіксували в Оваско ( $p < 0,05$ ). Найбільша різниця висот серед контрольних рослин та рослин у контейнерах з високою концентрацією кадмію була зареєстрована у Fish Creek (41,61%) і Onondaga (41,97%), а три інші сорти (SX67, Cicero і Wolcott) продемонстрували зниження на 33–37%. Довжина пагонів у сортів Марсі, Онейда, FC190 і FC189 дещо збільшилася (6–18%) при низькій концентрації Cd, але ці значення не достовірні.

Таблиця 1. Резюме тесту ANOVA для сімнадцяти сортів верби, вирощених у двох концентраціях кадмію та контролю для різних характеристик рослин.

	Сорт		Treatment		Сорт × treatment	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Фінальний результат	26,402	<0,001	19,964	<0,001	0,975	0,513
Біомаса пагона	28,836	<0,0001	7,744	0,001	0,865	0,676
Коренева біомаса	52,539	<0,0001	2,426	0,092	3,424	<0,0001
Хлорофіл <i>a</i>	6,743	<0,0001	209,622	<0,0001	2,608	<0,0001
Хлорофіл <i>b</i>	7,632	<0,0001	114,920	<0,0001	2,974	<0,0001
Каротиноїд	4,836	<0,0001	79,750	<0,0001	1,350	0,12
Хлорофіл <i>a/b</i>	4,545	<0,0001	32,972	<0,0001	1,522	0,051

	Cорт	Treatment		Cорт × treatment	
		F	Sig.	F	Sig.
концентрація Cd в листі	31,063	<0,0001	565,168	<0,0001	17,284 0,001
стовбура концентрація Cd	11,644	<0,0001	542,089	<0,0001	6,151 <0,0001
коренева концентрації Cd	2,987	<0,0001	567,776	<0,0001	1,894 0,014
Фактор транслокації	9,780	<0,0001	177,610	<0,0001	2,670 0,005
Індекс толерантності кореня	12,450	<0,0001	20,790	<0,0001	4,340 <0,0001
Індекс толерантності пагона	6,560	<0,0001	0,260 0,61	2,850 0,001	
Загальне поглинання Cd рослиною	23,217	<0,0001	18,125	<0,0001	3,334 0,001

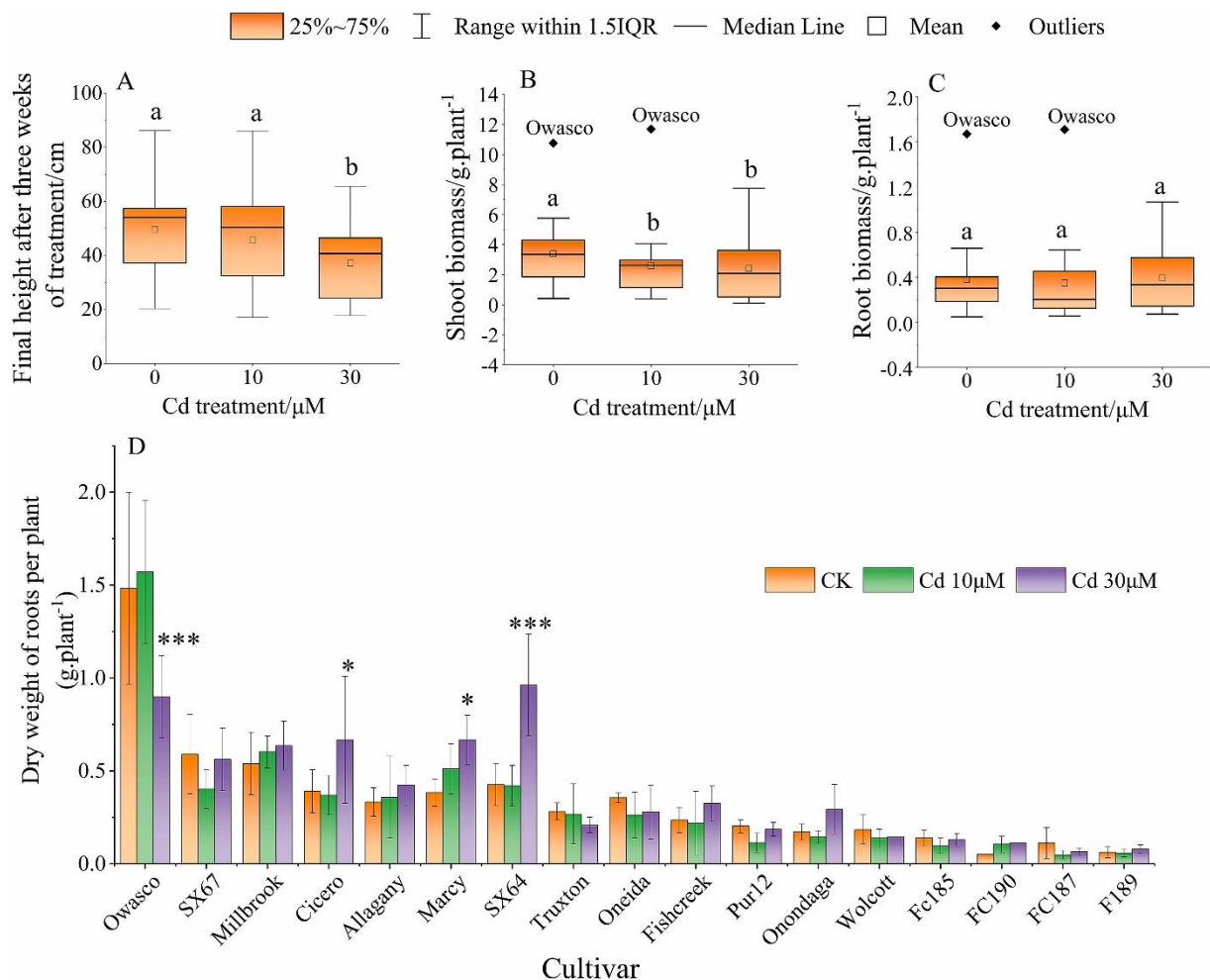
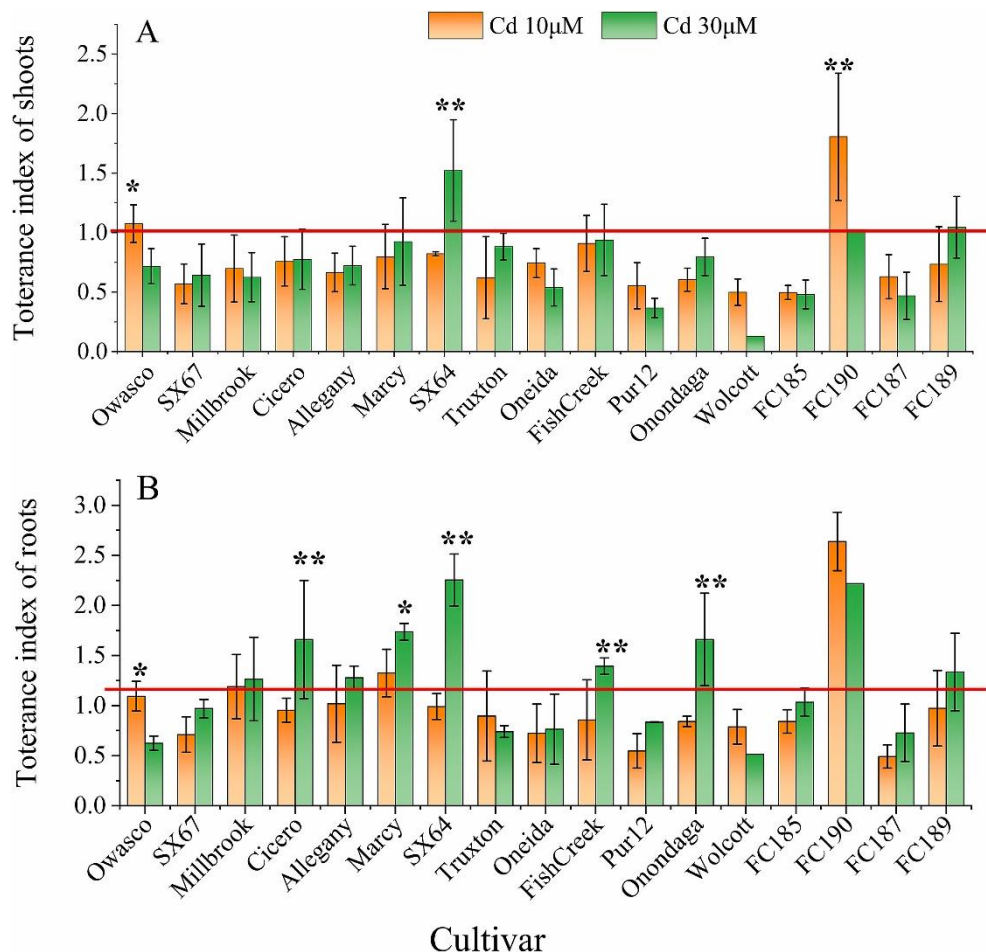


Рис. 1 . Зростання та виробництво біомаси 17 сортів верби через 21 день під впливом 0 мкМ, 10 мкМ і 30 мкМ Cd на гідропонії . (А, В і С – діаграма кінцевої висоти, біомаси пагона та біомаси кореня відповідно. Різні малі букви представляють значні відмінності між обробками при  $p < 0,05$ . D – це ілюстрація біомаси коренів для різних сортів і обробок. Одна зірочка та потрійна зірочка представляють суттєву різницю між обробками для певного сорту при  $p < 0,05$  та  $p < 0,0001$  відповідно, і відсутність мітки для відсутності істотної різниці.)

Кадмій по різному вплинув на біомасу пагонів і коренів, починаючи від значного пригнічення до стимуляції. Спостерігався значний вплив на біомасу пагонів ( $p < 0,0001$ ), проте взаємодії сорту та обробки не спостерігалось (таблиця 1 ). Загалом, біомаса пагонів більшості сортів була значно знижена з обома концентраціями Cd, якщо порівнювати з контролем ( рис. 1 -В), за винятком Owasco, SX64, FC190 і FC189, у яких була дещо збільшена суха маса пагонів як при низькій, так і при високій концентрації Cd. Біомаса коренів більшості сортів була подібною. Коренева біомаса для Owasco в контролі та за низької концентрації Cd була приблизно на 50% вищою, ніж за обробки з високим вмістом Cd. Для кількох сортів біомаса коренів була більшою при високій концентрації кадмію, ніж у інших випадках. Це стосується SX64, Цицерон і Марсі.

Було виявлено, що індекс толерантності значно впливає як на пагони, так і на корені. ІТ пагонів коливався від 0,13 до 1,81 ( рис. 2 -А), а кілька сортів, включаючи SX64, Owasco та FC190, мали різні ІТ для різних обробок Cd. Оцінки ІТ кореня коливалися від 0,49 до 2,63 ( рис. 2 -В), і взаємодія між обробкою та сортами також була значною. Загалом ІТ коренів були подібними між двома концентраціями Cd для багатьох сортів, але в кількох випадках (Cicero, Марсу, SX64 та Onondaga) вони були значно вищими для обробки з високим вмістом Cd, тоді як Owasco, Wolcott та FC190 показали значно гірший результат ІТ у випадку високої концентрації Cd.

ІТ пагонів трьох сортів (Owasco і FC 190 при низькому Cd і SX64 при високому Cd) були більшими за 1, а ІТ коренів одинадцяти сортів також були більшими за 1, дев'ять із яких, варто зауважити, були під час обробки з високим вмістом Cd. SX64 від *S. miyabeana* та FC190 від *S. purpurea* мали досягли найвищих показників як для пагонів, так і для коренів.



Малюнок 2 . Індекс толерантності (ІТ) пагонів і коренів сімнадцяти сортів за обробки Cd 10 мкМ і 30 мкМ. (А-ІТ пагонів; В-ІТ коренів; одна зірочка та подвійні зірочки позначають суттєву різницю між обробками для певного сорту при  $p < 0,05$  та  $p < 0,01$  відповідно.)

Wolcott, FC187, FC189 і Pur12, не виробляли достатньої кількості біомаси для визначення елементів. ANOVA показав, що на концентрацію Cd у листках, стеблах і коренях впливала на сорти і обробки (таблиця 1). Це вказує на те, що накопичення Cd у тканинах верби змінюється в залежності від різних генотипів і сили забруднення кадмієм. Загалом, концентрація Cd значно зросла зі збільшенням рівня Cd. Це збільшення було більш помітним у коренях, ніж у стеблах і листках (рис. 3). Усі сорти мали значне збільшення концентрації Cd у корені. У стеблах (рис. 3-В), кілька сортів, включаючи FC185, Millbrook і Onondaga, накопичували Cd при низькій і високій обробці Cd, а в листі (рис. 3-А) лише чотири сорти, включаючи Cicero, Fish Creek, Oneida і SX64, накопичували значно більше Cd зі збільшенням обробки Cd, тоді як Оваско і Тракстон містили менше Cd в листі при високій концентрації Cd.

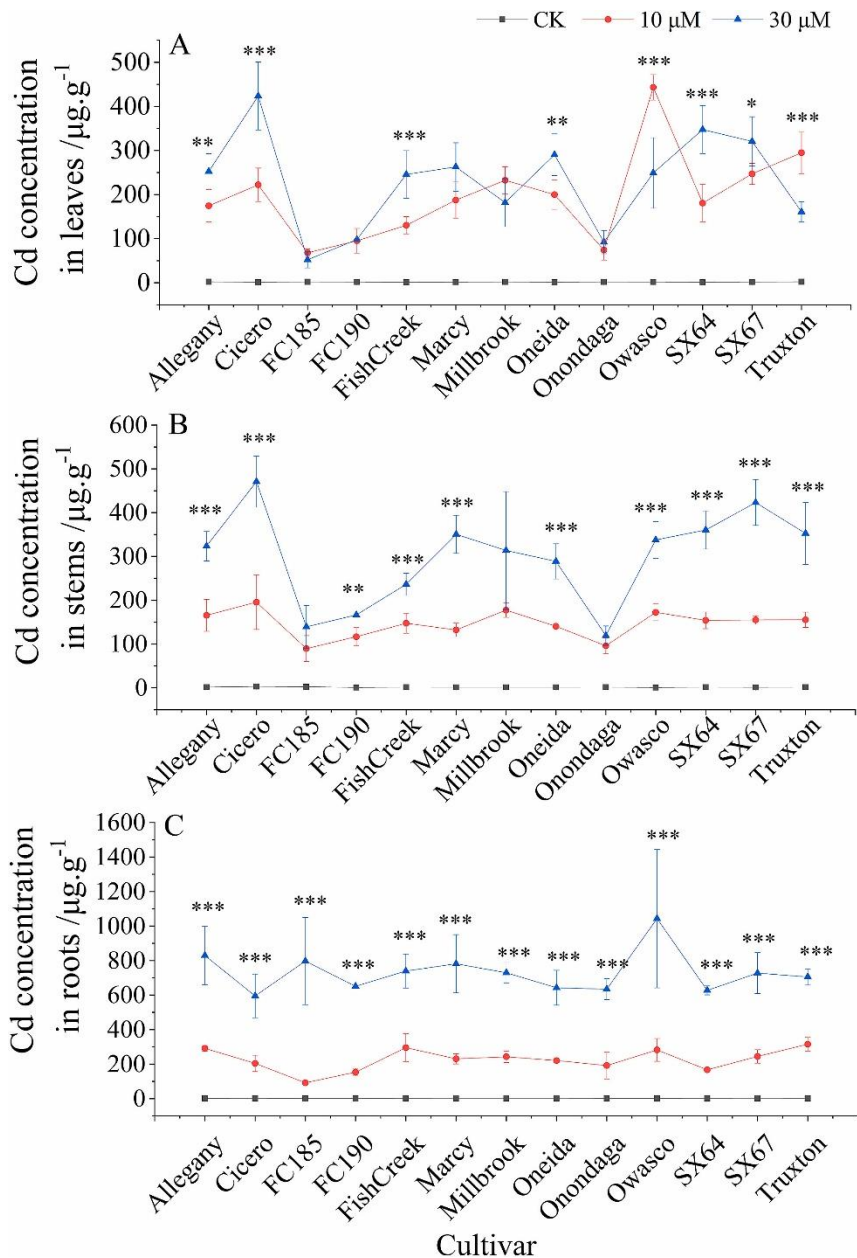


Рис. 3 . Концентрація кадмію в листках, стеблах і коренях тринадцяти сортів через 21 день під впливом 0 мкМ, 10 мкМ і 30 мкМ Cd. (Концентрація А–Cd у листі; В–концентрація Cd у стеблах; концентрація С–Cd у коренях. Одинарна зірочка, подвійні зірочки та потрійні зірочки представляють значну різницю між обробкою 10 мкМ та 30 мкМ Cd для певного сорту при  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  і  $p < 0,0001$  відповідно.)

Концентрація кадмію в листках коливалася від  $52,23 \pm 18,46$  мкг.  $\text{г}^{-1}$  (FC185 з 30 мкМ Cd) до  $443,35 \pm 28,93$  мкг.  $\text{г}^{-1}$  (Оwasco з 10 мкМ Cd). Середня концентрація Cd у стеблах становила  $222,38$  мкг.  $\text{г}^{-1}$ , що було дуже схожим на листя ( $212,60$  мкг  $\text{г}^{-1}$ ). Концентрація Cd у кореннях коливалася від  $92,01 \pm 12,01$  до  $1043,23 \pm 401,17$  мкг.  $\text{г}^{-1}$  із середнім значенням  $478,47$  мкг.  $\text{г}^{-1}$ . Найвищі концентрації в стеблах і коренях були відзначені в Cicero і Owasco, обидва вони вирощені в 30 мкМ Cd, а найнижчі концентрації в стеблах і коренях були виявлені в FC185 в 10 мкМ Cd.

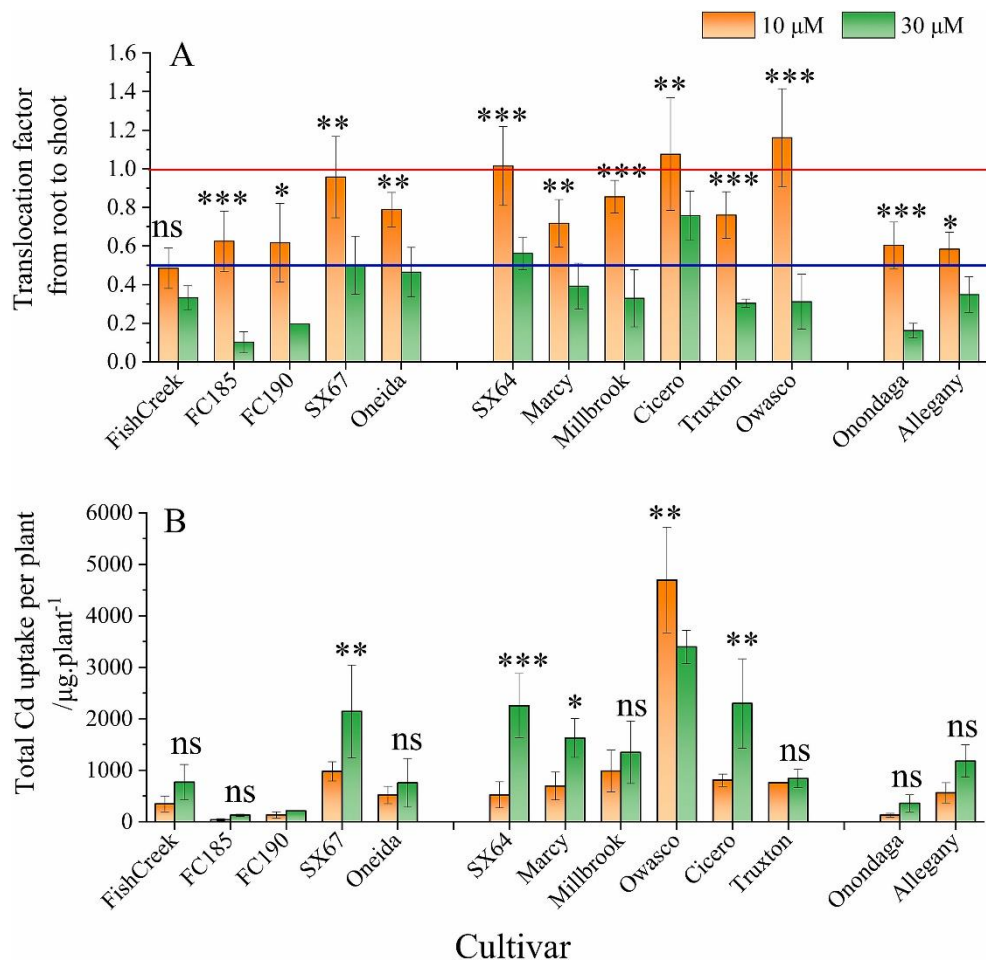


Рис. 4. Фактор транслокації (TF) від пагонів до коренів і загальне поглинання кадмію рослиною в тринадцяти сортах після 21 дня під впливом 0 мкМ, 10 мкМ і 30 мкМ Cd на гідропонії. (А- TF; В-Загальне поглинання кадмію рослиною. Одна зірочка, подвійні зірочки та потрійні зірочки представляють суттєву різницю між обробками для певного сорту при  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  і  $p < 0,0001$  відповідно, а ns означає немає істотної різниці.)

#### Вплив мікоризної інокуляції на накопичення металу листям тополі на маргінальних ділянках

Обидва майданчики перебували в однакових помірних кліматичних умовах із середньорічними температурами 10,8-10,9 °C і середньорічна кількість опадів у діапазоні від 639 до 743 мм засаджені невикоріненими живцями довжиною 1,5 м двох клонів тополі, Скадо та I-214. Половина дерев була інокульована наступними грибами: ендомікоризними (*Rhizophagus intraradices* BEG140, *Funelliformis mosseae* BEG95, *F. geosporum* BEG199, *Claroideoglossum claroideum* BEG96, *C. etunicatum* BEG92, *Glomus microaggregatum* BEG56, *Rhizophagus irregulare* DAOM1971989) і ектомікоризними (*Hebeloma mesophaeum*, *Amanita rubescens*, *Laccaria proxima*, штами *Paxillus involutus*, *Pisolithus arrhizusi*, *Scleroderma citrinum*)



клони Skado, так і I-214 з двох ділянок показали вищі позакореневі концентрації Cd і Zn порівняно з тими, які зазвичай вимірюють у тополях, вирощених на незабруднених ділянках (рис. 3). Найвищі концентрації Cd і Zn були виміряні в листі тополі, зібраному в найбільш сильно забрудненій зоні F Н у Френі (рис. 3). Не було виявлено жодних статистичних відмінностей між концентраціями Cd в листі I-214 і Skado на ділянці Fresnes, тоді як Skado накопичував більше Cd, ніж I-214 на ділянці Pierrelaye. Скадо у більшості випадків накопичував більше Cd, Cr, Pb і Zn, ніж клон I-214.

Таблиця 2. Загальні концентрації мікроелементів і основних елементів композитних зразків верхнього шару ґрунту з двох ділянок (мг кг<sup>-1</sup> DW), П'єрреле та Френ на час плантації (2011). Місцеві звичайні сільськогосподарські концентрації (UAC; Lamy et al. (2006)) і порогові значення, що використовуються для оцінки якості відкладень каналу, що витягуються (S1; MEDD (2006)), вказані для порівняння. P L і F L відносяться до найменш забруднених територій на ділянках Pierrelaye і Fresnes відповідно, тоді як P Н і F Н відносяться до найбільш забруднених територій двох ділянок. P33 і F33 відносяться до незасаджених ділянок.

Site	Area	Plot	Al	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Na	Ni	Pb	Zn	
Pierrelaye	P <sub>L</sub>	P32	13600	4.52	6850	1.69	6.52	44.8	130	13500	3320	1170	759	21.4	243	352	
		P31	9130	4.14	6110	1.61	5.38	42.8	123	8500	3300	980	745	17.4	214	365	
		P22	7790	3.41	5160	1.47	5.5	36.4	94.4	6440	2870	769	615	16.4	207	289	
		P11	8530	4.22	5730	1.40	5.22	38.2	107	8030	3190	803	760	17.18	236	218	
		P13	13500	10.7	12500	3.85	7.49	59.0	229	11400	4190	1670	970	22.8	318	561	
	P <sub>H</sub>	P12	16300	13.4	17000	5.93	7.83	76.9	281	14000	4603	2023	1148	27.6	361	525	
		P24	11600	8.53	8290	3.26	5.87	53.7	179	9700	3950	1410	931	17.8	263	268	
		P23	16600	15.9	13600	6.11	9.07	92.1	340	14300	4690	2083	1557	31.3	488	427	
		P33		4.07		2.97	2.75	28.7	51.0						9.83	244	677
		UAC				0.19–0.42	3.0–7.7	15–29	8–19						6–20	18–43	34–63
	Fresnes	F <sub>L</sub>	F29	337	9.16	13900	0.49	10.1	46.6	19.6	183	141	3012	5620	20.9	40.5	79.0
			F30	345	8.69	13200	0.46	9.40	53.0	25.5	184	143	2890	5860	18.8	44.5	92.0
			F32	424	10.7	19200	0.52	12.2	51.9	29.3	224	159	3230	6500	22.7	52.1	172
F31			373	10.2	15200	0.49	10.6	50.4	27.8	196	145	3010	6060	21.3	47.0	137	
F4			505	23.5	30400	67.1	10.4	9.00	114	374	168	3750	3440	17.3	459	2560	
F <sub>H</sub>		F9	505	24.3	29600	10.1	18.2	86.1	114	395	128	3710	3570	40.6	497	2580	
		F5	483	21.0	39300	60.1	8.60	7.5	101	348	131	3807	3527	15.7	390	2023	
		F12	448	19.1	19000	0.93	14.5	67.8	62.6	277	141	3460	4990	29.3	224	1105	
		F33				6.52			65.4							335	1600
		S1		30		2		150	100						50	100	300

Таблиця 3. Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - екстраговані концентрації РТЕ у зразках верхнього шару ґрунту з двох ділянок (мг кг<sup>-1</sup> DW), П'єрреле та Френ. P L і F L відносяться до найменш забруднених територій на ділянках Pierrelaye і Fresnes відповідно, тоді як P Н і F Н відносяться до найбільш забруднених територій двох ділянок. Зразки ґрунту вперше були зібрані в 2011 році під час посадки (композити виготовлені з 10 зразків верхнього шару ґрунту), потім у 2012 (середнє значення ± sd; n = 10) та 2013 (середнє значення ± sd; n = 10) на ділянках у Френі та П'єрреле відповідно. «-ні» відноситься до неінокульованих клонів; «-і» відноситься до інокульованих клонів. Різні літери вказують на значні відмінності між обробками (з інокуляцією або без) для кожної ділянки та кожного клону за даними 2012 та 2013 років (p < 0,05). Жодна літера не вказує на відсутність різниці (для даних 2012 та 2013 років).

Site	Area	Plot	Clone-Treatment	As		Cd		Cr		Cu		Ni		Pb		Zn		
				2011	2012/2013	2011	2012/2013	2011	2012/2013	2011	2012/2013	2011	2012/2013	2011	2012/2013	2011	2012/2013	
Pierrelaye	P <sub>L</sub>	P32	I214-ni	0.023 (0.003) <sup>c</sup>	0.031 (0.000) <sup>c</sup>	< 0.005	0.002 (0.000) <sup>c</sup>	0.007	0.014 (0.005) <sup>b</sup>	< 0.015	0.202 (0.027) <sup>b</sup>	< 0.015	0.032 (0.006) <sup>c</sup>	< 0.006	0.015 (0.005) <sup>c</sup>	< 0.06	0.411 (0.156) <sup>b</sup>	
		P31	I214-i	0.022 (0.005) <sup>b</sup>	0.039 (0.000) <sup>c</sup>	0.011	0.003 (0.000) <sup>c</sup>	0.007	0.024 (0.006) <sup>a</sup>	< 0.015	0.220 (0.028) <sup>b</sup>	< 0.015	0.048 (0.013) <sup>b</sup>	0.115	0.045 (0.028) <sup>a</sup>	1.556	0.779 (0.377) <sup>a</sup>	
		P22	Skado-ni	0.019 (0.005) <sup>c</sup>	0.040 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.005	0.003 (0.001) <sup>b</sup>	0.020	0.018 (0.003) <sup>b</sup>	0.024	0.223 (0.027) <sup>c</sup>	< 0.015	0.040 (0.006) <sup>b</sup>	< 0.006	0.031 (0.012) <sup>a</sup>	0.252	0.756 (0.318) <sup>b</sup>	
	P <sub>H</sub>	P11	Skado-i	0.021 (0.006) <sup>a</sup>	0.033 (0.005) <sup>c</sup>	< 0.005	0.002 (0.001) <sup>c</sup>	0.007	0.018 (0.003) <sup>b</sup>	< 0.015	0.206 (0.020) <sup>c</sup>	< 0.015	0.032 (0.003) <sup>c</sup>	< 0.006	0.039 (0.028) <sup>a</sup>	< 0.06	0.484 (0.129) <sup>c</sup>	
		P13	I214-ni	0.034 (0.006) <sup>a</sup>	0.047 (0.006) <sup>a</sup>	< 0.005	0.004 (0.001) <sup>b</sup>	0.014	0.020 (0.003) <sup>a</sup>	0.121	0.355 (0.036) <sup>a</sup>	< 0.015	0.059 (0.005) <sup>a</sup>	< 0.006	0.026 (0.007) <sup>b</sup>	0.182	0.653 (0.165) <sup>a</sup>	
		P12	I214-i	0.026 (0.008) <sup>a</sup>	0.047 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.005	0.004 (0.001) <sup>b</sup>	0.008	0.024 (0.009) <sup>a</sup>	0.064	0.355 (0.047) <sup>a</sup>	< 0.015	0.067 (0.015) <sup>a</sup>	< 0.006	0.044 (0.030) <sup>ab</sup>	0.288	0.899 (0.381) <sup>a</sup>	
	Premes	F <sub>L</sub>	P24	Skado-ni	0.028 (0.008) <sup>a</sup>	0.052 (0.000) <sup>b</sup>	< 0.005	0.003 (0.000) <sup>b</sup>	0.010	0.023 (0.004) <sup>a</sup>	0.055	0.309 (0.056) <sup>b</sup>	< 0.015	0.058 (0.007) <sup>a</sup>	< 0.006	0.009 (0.009) <sup>a</sup>	0.123	0.916 (0.317) <sup>a</sup>
			P23	Skado-i	0.024 (0.006) <sup>b</sup>	0.044 (0.001) <sup>a</sup>	< 0.005	0.004 (0.001) <sup>a</sup>	0.013	0.022 (0.004) <sup>a</sup>	0.091	0.384 (0.053) <sup>a</sup>	< 0.015	0.059 (0.011) <sup>a</sup>	< 0.006	0.022 (0.006) <sup>b</sup>	0.232	0.797 (0.138) <sup>ab</sup>
			P33	Unplanted	0.023 (0.002)	0.025 (0.000)	< 0.005	0.002 (0.000)	0.006	0.015 (0.004)	< 0.015	0.182 (0.016)	< 0.015	0.027 (0.002)	< 0.006	0.027 (0.014)	< 0.060	0.425 (0.175)
	Pierrelaye	F <sub>L</sub>	F29	I214-ni	0.016 (0.005) <sup>a</sup>	0.015 (0.000) <sup>c</sup>	< 0.005	< 0.002	< 0.006	0.004 (0.000) <sup>c</sup>	< 0.015	0.036 (0.004) <sup>c</sup>	< 0.015	0.016 (0.002)	< 0.006	0.003 (0.002) <sup>b</sup>	< 0.06	0.060 (0.022) <sup>c</sup>
			F30	I214-i	0.014 (0.004) <sup>a</sup>	0.017 (0.000) <sup>c</sup>	< 0.005	< 0.002	< 0.006	0.005 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.015	0.057 (0.018) <sup>b</sup>	< 0.015	0.015 (0.002)	< 0.006	0.003 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.06	0.073 (0.056) <sup>c</sup>
			F32	Skado-ni	0.027 (0.004) <sup>b</sup>	0.014 (0.000) <sup>b</sup>	< 0.005	< 0.002	< 0.006	0.005 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.015	0.051 (0.010) <sup>b</sup>	< 0.015	0.018 (0.002)	< 0.006	0.003 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.06	0.084 (0.020) <sup>b</sup>
		F <sub>H</sub>	F31	Skado-i	0.023 (0.004) <sup>a</sup>	0.020 (0.001) <sup>ab</sup>	< 0.005	< 0.002	< 0.006	0.006 (0.001) <sup>ab</sup>	< 0.015	0.055 (0.021) <sup>b</sup>	< 0.015	0.019 (0.005)	< 0.006	0.003 (0.002) <sup>b</sup>	< 0.06	0.071 (0.034) <sup>b</sup>
F4			I214-ni	0.010 (0.002) <sup>ab</sup>	0.015 (0.001)	< 0.005	0.003 (0.001)	< 0.006	0.006 (0.002) <sup>b</sup>	< 0.015	0.085 (0.014) <sup>a</sup>	< 0.015	0.020 (0.011)	< 0.006	0.010 (0.005) <sup>a</sup>	0.151	0.402 (0.141) <sup>a</sup>	
F9			I214-i	0.012 (0.001) <sup>b</sup>	0.013 (0.001)	0.014	0.003 (0.001)	< 0.006	0.007 (0.003) <sup>a</sup>	< 0.015	0.084 (0.016) <sup>a</sup>	< 0.015	0.017 (0.009)	< 0.006	0.011 (0.004) <sup>a</sup>	0.770	0.276 (0.108) <sup>b</sup>	
Pierrelaye		F <sub>H</sub>	F5	Skado-ni	0.013 (0.004) <sup>a</sup>	0.018 (0.001) <sup>a</sup>	< 0.005	0.003 (0.001) <sup>a</sup>	< 0.006	0.007 (0.003) <sup>a</sup>	< 0.015	0.084 (0.012) <sup>a</sup>	< 0.015	0.022 (0.009)	< 0.006	0.014 (0.006) <sup>a</sup>	0.278	0.353 (0.114) <sup>a</sup>
			F12	Skado-i	0.012 (0.002) <sup>b</sup>	0.014 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.005	0.002 (0.001) <sup>b</sup>	< 0.006	0.006 (0.003) <sup>b</sup>	< 0.015	0.073 (0.008) <sup>a</sup>	< 0.015	0.015 (0.004)	< 0.006	0.014 (0.005) <sup>a</sup>	0.234	0.311 (0.060) <sup>a</sup>
Pierrelaye		F <sub>H</sub>	F33	Unplanted	-	0.011	0.005 (0.002)	< 0.002	-	0.005	0.027 (0.008)	-	0.016	0.002 (0.001)	0.002 (0.001)	1.107 (0.843)	0.312	

У цьому дослідженні було виявлено значне зниження концентрацій Zn, Cu, Pb і Cr у листі в інокульованих тополях Скадо порівняно з неінокульованими на ділянці Fresnes F H (рис. 3). У тому ж районі спостерігалася чітка подібна тенденція щодо концентрацій Zn, виміряних у листках I-214, і концентрацій Cd у листках I-214 і Skado, хоча статистично незначуща. Помітно, що вплив інокуляції було підтверджено лише для клонів Skado в районі Fresnes F H, який характеризувався найвищими загальними концентраціями РТЕ у ґрунті (табл. 2). Ця тенденція була підтверджена РСА, проведеним з концентраціями РТЕ в листі, який відрізняв неінокульований Skado (F-ni-F5) та I-214 (F-ni-F4) з більш високими концентраціями Zn і Cd в листі, ніж з інокульованим Skado (Fi-F12) та I-214 (Fi-F9), усі з області Fresnes F H (рис. 2 b). Навпаки, інокуляція також спричинила збільшення позакореневих концентрацій Cu та Zn на деяких ділянках F L та P L.

Цікаво відзначити, що фільтруюча функція арбускулярних мікоризних грибів (AMF) у випадку сильно забруднених ґрунтів домінує в літературі, як, наприклад, у роботах, описаних Meier et al. (2012b) і Garg and Aggarwal (2012), більшість досліджень проводилися в експериментах з горщиками. Навпаки, деякі автори продемонстрували, що інокуляція рослин AMF, таких як види *Glomus*, значно посилює транслокацію РТЕ до надземних частин рослин (Meier et al., 2012a). Рівні РТЕs у ґрунті також можуть впливати на роль арбускулярного мікоризного симбіозу (Audet and Charest, 2007), що може призвести до збільшення поглинання рослинним металом при низьких концентраціях РТЕ у ґрунті, а також до зниження біодоступності РТЕ через процеси зв'язування металів грибами при високих рівнях РТЕ у ґрунті. Механізми, що лежать в основі накопичення металів, можуть включати металотіонеїни, невеликі білки, які зв'язують метали в процесі детоксикації рослин, як було продемонстровано в експерименті в теплиці (Cicatelli та ін., 2014). Гарг і Аггарвал (2011) також повідомили, що AMF індукує виробництво хелатуючих агентів (фітохелатинів) і антиоксидантів (глутатіону), щоб зменшити токсичність РТЕ і транслокацію в пагонах рослин. Утворюючи екстраадикальні мережі міцелію, AMF також може мінімізувати вплив на рослини надмірних рівнів РТЕ шляхом виробництва гломалінів, білки, що дозволяють іммобілізувати РТЕ в гіфах (Cabral et al., 2015). Автори, однак, часто ставили під сумнів той факт, що дослідження в польових експериментах необхідні для демонстрації застосовності їхніх висновків. Тому наша робота підтверджує цей головний висновок. Порівняно з неінокульованими тополями, інокуляція не покращила концентрації поживних речовин з огляду на P, K, Ca, Mg, Fe та Mn у листі, проаналізованих наприкінці вегетаційного періоду в 2013 році (рис. 4). Незважаючи на це, ранньою весною 2013 року ми виміряли значне збільшення виробництва біомаси на обох ділянках для клону тополі Скадо (Ciadamidaro et al., 2017). Таким чином, ми можемо зробити висновок, що

мікоризні гриби могли збільшити об'єм ґрунту, досяжного окремому дереву, що дозволило покращити виробництво біомаси.

На деяких ділянках (таблиця 3), засаджених інокульованими клонами (на P31, P12, P23, F30, F31 і F9), було значним збільшення концентрацій РТЕ, які можна витягти, що свідчить про індукцію мобілізації РТЕ у ґрунтах шляхом інокуляції. Мікоризні гриби можуть ініціювати виділення органічних кислот із коренів і розчиняти ПТЕ (Churchland and Grayston, 2014). І навпаки, ймовірно, що щеплення також зменшило мобільність РТЕ на інших ділянках (P11, P23, F9 і F12) через процеси зв'язування металу (Cicatelli et al., 2014). Крім того, екстраговані концентрації ФТЕ в ґрунтах не корелювали з ефектом інокуляції на накопичення ФТЕ тополями (рис. 2). Як обговорювалося в нашій попередній статті (Ciadamidaro et al., 2017), показники мікоризної колонізації статистично не відрізнялися між чотирма областями (F L , F H , P L і P H), і тому не можуть пояснити найнижчі накопичення РТЕ в листі щеплених тополь порівняно з неінокульованими. Оскільки немає засобів (а отже, жодних спроб) точно ідентифікувати мікоризні ізоляти, які були додані як біологічні зміни до дерев на плантації, ми можемо лише припускати, що мікоризні гриби, присутні в інокуляті, будуть ефективнішими, ніж ендегенні мікоризні грибки в їх здатності фільтрувати РТЕ (наприклад, шляхом виробництва більшої кількості гломалінів).

Таблиця 4. Коефіцієнти біоконцентрації Cd і Zn на основі їх позакореневих концентрацій у листі тополі ( $\text{mg kg}^{-1} \text{DW}$ ) і загальних концентрацій у ґрунті ( $\text{mg kg}^{-1} \text{DW}$ ).

	Повторення	Клон	Варіант	Cd	Zn
П'єрреле	P <sub>L</sub>	I214	Не щеплений P32	1.17	0,74
			Щеплений P31	1.36	0,79
	Скадо		Не щеплений P22	2.46	1.26
			Щеплений P11	2.46	1.37
	P <sub>H</sub>	I214	Не щеплений P13	0,54	0,65
			Щеплений P12	0,32	0,63
Фресн	Скадо		Не щеплений P24	1.71	1.78
			Щеплений P23	0,83	0,89
	F <sub>L</sub>	I214	Не щеплений F29	4.13	1.73
			Щеплений F30	3.24	2,97
	Скадо		Не щеплений F32	4.02	2.00
			Щеплений F31	10.3	3.14

Повторення	Клон	Варіант	Cd	Zn
F <sub>n</sub>	I214	Не щеплений	F4	0,19 0,21
		Щеплений	F9	1.16 0,17
	Скадо	Не щеплений	F5	0,20 0,36
		Щеплений	F12	12.1 0,47

7 Мікробні спільноти в ризосфері різних генотипів верби впливають на фітореMediaційний потенціал у забрудненому Cd ґрунті

Ґрунт алювіальний. Ділянки було засаджено J1011, J172 або J2345. Зрізи верби, довжиною 20 см і товщиною 2 см, були висаджені глибиною 15 см у квітні із щільністю 33000 саджанців на гектар (1 м × 30 см).

Концентрації Cd у ґрунтах становили 0,97 мг/кг та 4,19 мг/кг на ділянках BGZ та KJ відповідно (таблиця S1). Три генотипи верби продемонстрували різний приріст біомаси на двох забруднених ділянках, і надземна біомаса J1011 і J172 була значно вищою, ніж J2345 (рис. 1 А). Розподілення концентрації Cd у тканинах верби була лист > стебло > корінь. Вміст Cd у J2345 був вищим, ніж у двох інших генотипах на тому самому місці (рис. 1 Б). При комплексному врахуванні біомаси та вмісту Cd у тканинах верби річна біоаккумуляція Cd у надземних частинах становила 2,61–4,85 мг/м<sup>2</sup> на ділянці BGZ та 8,84–14,72 мг/м<sup>2</sup> на ділянці KJ. Біомаса та концентрація Cd у тканинах верби суттєво відрізнялися між генотипами ( $p < 0,001$ ). Найвище накопичення кадмію було у J1011 через його помітно високу біомасу, за яким йдуть J172 та J2345.

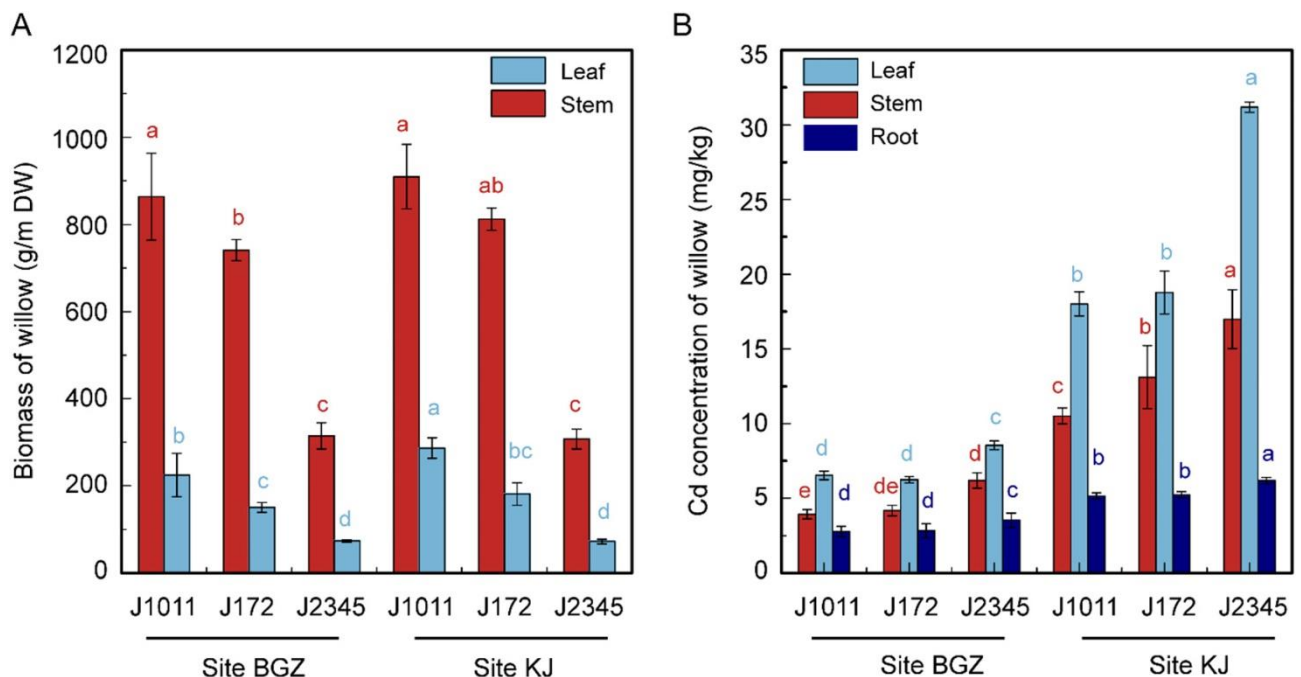


Рис. 1 . (А) Біомаса та (В) концентрація Cd різних генотипів верби, вирощених на двох ділянках.

Вплив забрудненого ґрунту на продуктивність росту молодих *Salix* (*Salix schwerinii* EL Wolf) і потенціал цього сорту верби у фітореємедіації важких металів

Вживання верби під час експерименту становила 100%. Немає візуальних симптомів токсичності Cu, Cr, Ni та Zn. Коріння та пагони в обробках Cu, Cr, Ni та Zn (Т5–Т16) були відносно короткими порівняно з такими в контролі (Т1–Т4). Жодних ознак фізіологічного стресу в рослинах не спостерігалось. Загальна середня концентрація хрому в органах рослин коливалася від 17,05 до 250,45 мг кг<sup>-1</sup>, середня концентрація цинку коливалася від 142,32 до 1616,59 мг кг<sup>-1</sup>, середня концентрація міді коливалася від 12,11 до 223,74 мг кг<sup>-1</sup>, а середня концентрація нікелю коливалася від 10,11 до 75,90 мг кг<sup>-1</sup>. Середня концентрація хрому в органах рослин коливалася від 46 до 94%, середня концентрація цинку коливалася від 44 до 76%, середня концентрація міді коливалася від 19 до 54%, а середня концентрація нікелю коливалася від 8 до 21% для всіх обробок. За різних обробок хром поглинався *Salix* у найбільших кількостях, за ним йшли цинк, мідь і нікель відповідно. *Salix* також викликав помірне зниження загального вмісту нафтових вуглеводнів. Результати експерименту в горщиках свідчать про те, що *Salix schwerinii* має потенціал для накопичення значної кількості хрому, цинку, міді та нікелю. Однак необхідні довгострокові дослідження, щоб перевірити здатність *Salix* до фітоекстракції, спостережувану в експерименті з горщиком.

Фітореємедіація є економічно ефективною та екологічно чистою технологією, яка використовує потужність гіперакумулятивних рослин для вилучення важких металів із ґрунту (Krämer, 2005, McGrath et al., 2006).

До фітореємедіації середні значення Cu, Cr, Ni та Zn коливалися від 26,1 до 686,4 мг/кг, від 36,4 до 349,1 мг/кг, від 94,3,4–354 мг/кг і від 319,4 до 2108,5 мг/кг<sup>-1</sup> відповідно в усіх варіантах реємедіації (таблиця 2). Вміст міді, Cr, Ni та Zn у більшості обробок (позначених жирним шрифтом і курсивом у таблиці 2) був явно завищені. Середні значення N%, Al, Ca, Mg, Na, P, K і S були дуже високими в усіх варіантах реємедіації (таблиця 2).

Двадцятисантиметрові сплячі живці з чотирирічних стебел, відібрані для однорідності на основі діаметра та кількості бруньок на живці, висаджували в пластикові горщики об'ємом 1,1 л, наповнені контрольним ґрунтом (незабрудненим) або гомогенізованим польовим ґрунтом і піском (забрудненим). Живці *Salix* висаджували по одному живцюванню на горщик і вирощували

протягом 141 дня з 18 липня по 6 листопада. Експеримент було налаштовано як повністю рандомізована схема з десятьма повторами та шістнадцятьма варіантами. Ремедіація та відповідні кодові назви (T1–T16) представлені в таблиці 1. 160 живців із шістнадцяти дерев було поміщено в 160 пластикових горщиків об'ємом 1,1 л із контрольним або забрудненим ґрунтом. Кожна обробка ґрунту мала два різні рівні рН (тобто 4 і 6) і обробку води (водопровідна та оброблена вода) (таблиця 1). Крім того, у кожному із відповідних варіанті ґрунту та води використовували чотири горщики без живців *Salix* (Таблиця 1).

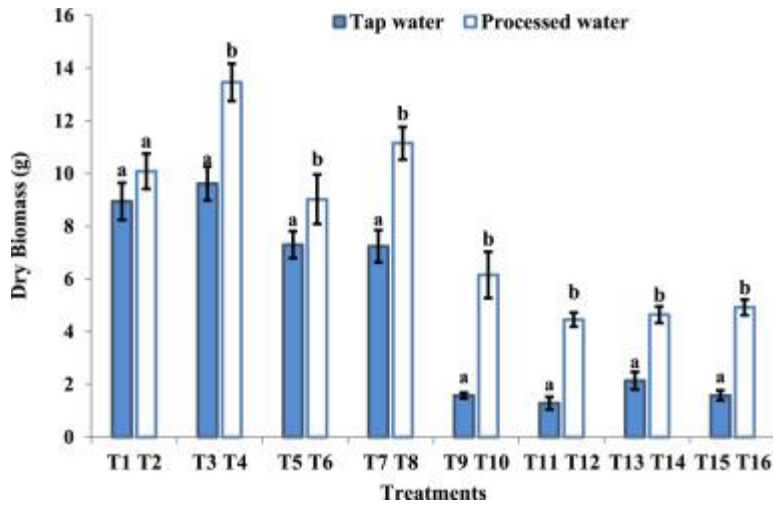
Температура камери вирощування становила 15,5 °С вночі/18–21 °С вдень, з максимальною межею температури 24 °С. Вологість (50%), повне освітлення (16 год).

Таблиця 2. Середнє значення концентрації елементів у різних обробках (n = 4, у кожній обробці) до фіторемердіації. t – лікування; cc – хімічний склад; Значення курсиву та напівжирного шрифту перевищують значення вищої орієнтовної лінії (додаткові матеріали 2).

CC (mg kg <sup>-1</sup> )	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
N (percent)	1.02	1.06	1.03	1	0.58	0.81	0.79	0.82	0.62	0.68	0.58	0.58	0.68	0.8	0.59	0.66
Al	5663	5932	4097.2	4207.8	4598	4288	3758	4616	5516	5655	7643	7450	7447	8293	7841	8154
Ca	4154	6582	13,311	14,630	3917	6236	11,007	13,286	5899	7935	11,916	14,328	5426	7514	10,758	12,450
Mg	15,315	15,645	13,039	13,611	12,306	12,022	11,404	12,721	8979	10,032	13,756	15,394	13,583	15,117	14,290	15,535
Na	315.2	4031	232.6	4752.6	219.1	3620	184.9	3390	421.5	3456	385.2	2895	331	3517	296.6	3295
P	945	576.6	595.4	662.1	649.2	486.8	484.9	515.9	921.3	823.4	1015	1036	1481	1098	1228	940.1
K	1389	1687	1337.9	2372.1	1601	1779	1447	2069	2021	2441	5590	6406	5504	6757	5383	6601
Fe	5140	5294	4803.4	4815.8	3127	3177	3498	3670	17,345	14,973	19,676	17,892	23,103	19,756	22,209	20,533
Mn	189.2	213.5	257.3	243.4	113.6	122.7	160.7	175.5	176.2	172.2	246.4	271.8	208.6	195.8	240.9	242.6
Cu	38.8	53.5	46.7	54.1	56.4	62.1	26.1	31.4	<b>536</b>	<b>573</b>	<b>437</b>	<b>419</b>	<b>595</b>	<b>686</b>	<b>481</b>	<b>426</b>
Pb	5.6	5.8	5.3	4.9	6.8	5.7	6.3	7.2	121.4	105.2	107.5	101.1	123.3	102.1	298.6	94.8
Cr	52.4	39	36.4	37.9	128	148.1	67	87.9	141.7	151.6	132.3	174	<b>301</b>	<b>349</b>	<b>341</b>	<b>346</b>
S	1992	2132	1869.4	3004	1457	1852	1179	1705	1926	2547	1773	2203	1897	2653	1935	2618
Si	573.5	577.5	472	380.3	584.5	540.9	593.6	605.1	728.8	898.9	792.4	890.7	1008	1106	1150	1244
Zn	386.1	385.6	319.4	323.2	<b>420</b>	<b>500</b>	<b>422</b>	<b>427</b>	<b>908</b>	<b>962</b>	<b>938</b>	<b>2094</b>	<b>1232</b>	<b>2109</b>	<b>729</b>	<b>2092</b>
B	12.1	9.8	8.1	13.9	8.8	8.8	6.6	11.7	12.8	15	14.2	18	11	12.8	14	19.4
Ni	103.2	105.6	104.9	105	<b>152</b>	122.9	94.3	120.7	142.7	<b>226</b>	131.3	<b>210</b>	<b>151</b>	<b>311</b>	<b>185</b>	<b>354</b>

Середній відносний ріст у групі обробки забрудненого ґрунту (T9–T16), яка отримувала зрошення водопровідною водою, був на 40–50% меншим порівняно з контрольною групою обробки (T1–T8). Найменший середній відносний зріст (23,7 см) виявлено у T11. Найбільший середній відносний приріст (144,7 см) виявлено у T4 (контрольна група).

Найвище середнє значення сухої біомаси становило 13,46 г у T4, а найнижче значення становило 1,28 г у T11. Середня суха біомаса зменшилася на 35–60% у групі обробки забрудненого ґрунту (T9–T16) порівняно з контрольною групою обробки (T1–T8) (рис. 2).



Малюнок 2 . Середня суха біомаса (г) *Salix* за обробок T1-T16 в горщиківому експерименті.

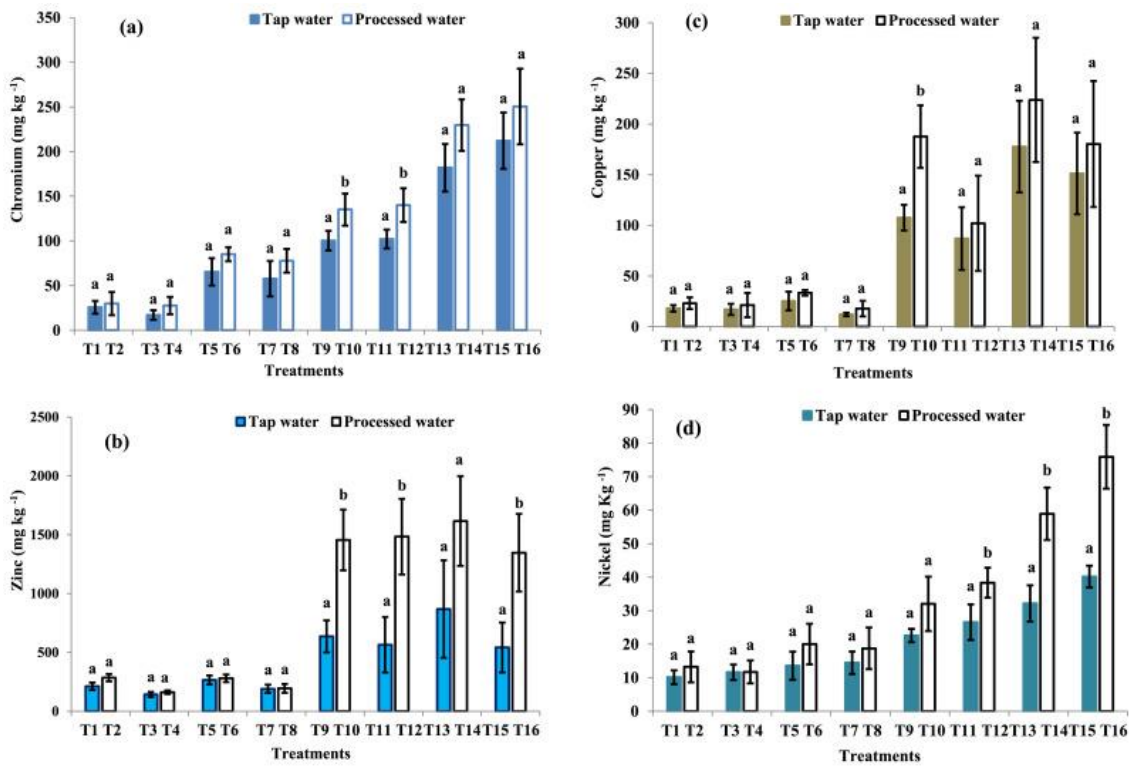


Рис. 4 . (а) Концентрації хрому (Cr), (b) цинку (Zn), (c) міді (Cu), (d) нікелю (Ni) (мг кг<sup>-1</sup>) під час обробок (T1–T16) у горщиківому експерименті після фітореMediaція.

Загальна концентрація Cr (сума листя, пагонів і коренів) у різних обробках коливалася від 17,05 до 250,45 мг/кг (рис. 4 а). Найвищі загальні концентрації Cr були в T16 (250,45 мг/кг) (група забруднених ґрунтів).

Загальна концентрація Zn (сума листя, пагонів і коренів) у різних обробках коливалася від 142,32 до 1616,59 мг/кг (рис. 4 б). Найвищі загальні концентрації Zn були в T14 (1616,59 мг/кг) (група забруднених ґрунтів). Загальна концентрація Cu (сума листя, пагонів і коренів) у різних обробках коливалася від



12,11 до 223,74 мг/ кг . Найвищі загальні концентрації Cu були в Т14 (223,74 мг/кг ) (група забруднених ґрунтів). Загальна концентрація Ni (сума листя, пагонів і коренів) у різних обробках коливалася від 10,11 до 75,90 мг/ кг . Найвищі загальні концентрації Ni були в Т16 (75,90 мг/кг ) (група забруднених ґрунтів). Загалом найбільше Cr, Cu, Ni та Zn накопичувалися в коренях, потім у пагонах і листі, у всіх обробках у цьому дослідженні.

### 32 Оцінка посадки дерев і впливу реагентів як заходів для рекультивації забруднених ґрунтів

У цьому дослідженні представлені дані щодо наступних видів дерев – Тополя біла (*Populus alba*), Каркас південний (*Celtis australisi*), Ясен вузьколистий (*Fraxinus angustifolia*), Дуб кам'яний (*Quercus ilex*), Оливкове дерево (*Olea europaea*), Ріжкове дерево (*Ceratonia siliqua L.*), Сосна італійська (*Pinus pinea*). Усі ці види, більшим чи меншим чином можуть рости в Україні.

Клімат типово середземноморський з м'якою дощовою зимою (середня річна кількість опадів близько 500 мм) і спекотним сухим літом. Середньорічна денна температура становить 17 °С, літній максимум 33,5 °С та зимовий мінімум 5,2 °С. Ґрунти неоднорідні через дуже різноманітну літологію та геоморфологію. Наявні піщані, псевдоглей. Присутні алювіальні ґрунти — це вапняні та не вапняні ґрунти, з піщаним і супіщаним складом. Є еродовані ґрунти. Вміст металів на га чи м3 ґрунту невідомий. Густота посадки 700–900 рослин/га.

Таблиця. Відсотковий вміст металів та сульфур у ґрунті

Element	Concentration (%)
Iron	34–37
Sulfur	35–40
Zinc	0.8
Lead	0.8
Arsenic	0.5
Copper	0.2
Antimony	0.05
Cobalt	0.0062
Thallium	0.005
Bismuth	0.005
Cadmium	0.0025
Silver	0.0025
Mercury	0.0015
Selenium	0.001

Через 14 років після посадки дерев, середнє значення рН верхнього шару ґрунту на засаджених ділянках становило 4,18, коливаючись від 2,63 до 6,05. Була

виявлена значна різниця між рН ґрунту під різними досліджуваними видами рослин (ANOVA  $F = 2,61$  та  $p = 0,03$ ). Кислотність ґрунту була найсильнішою (рН був найнижчим) під видами *Pinus* та *Quercus*. Навпаки, під видами *Ceratonia*, *Fraxinus* і *Populus* рН ґрунту був вищим. Незасаджені ділянки (з трав'янистим покривом і без дерев), а також ґрунт під *Celtis* та види *Olea* показали проміжні значення рН ґрунту (рис. 3).

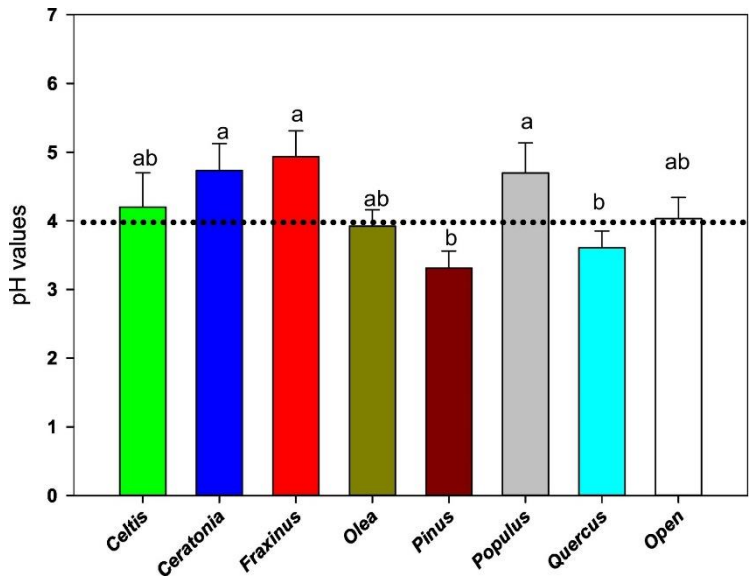


Рис. 3. Середні та SE значення рН ґрунту (глибина 0–10 см) під сімома видами дерев і порівняння з прилеглими відкритими ділянками (позначено пунктиром; дані 2014 зразків). Коли середні значення істотно відрізняються (згідно з тестом ЛСД), вони позначаються різними літерами.

Відносно високі псевдозагальні значення ТЕ у поверхневому ґрунті (0–10 см, таблиця S1) вказують на стійкість залишкового забруднення. Загальні значення (групування всіх зразків) для As коливаються між 65 і 317 із середнім значенням 145, середнє значення Cd становило 0,80 з максимумом 1,30, середнє значення Cu було 191 з максимумом 253, а для Zn середнє значення становило 243 з максимумом 364 (значення виражені в  $\text{mg kg}^{-1}$ ). Не було суттєвої різниці між ґрунтом під різними досліджуваними породами дерев або між деревами та відкритими ділянками, що вказує на загальне забруднення ТЕ.

Наявність As і Pb у ґрунті під деревами була нижчою за межу виявлення (див. рівні виявлення в розділі 3.1.1). Вищі значення рН ґрунту під деякими видами дерев призвели до експоненціального зниження доступності Cd, Cu та Zn (рис. 4). Таким чином, дерева деяких видів (наприклад, *Ceratonia*, *Fraxinus* і *Populus*) були ефективними для підвищення рН і зниження доступності ТЕ в ґрунті під ними. Навпаки, інші породи дерев (сосна та дуб) мали нижчий рН ґрунту порівняно з відкритими ділянками, а отже, були менш ефективними у зниженні доступності ТЕ. Нарешті, *Celtis* і *Olea* продемонстрували нейтральний вплив на рН ґрунту та доступність ТЕ.

Коефіцієнти транслокації (TF) також відрізнялися серед деревних видів і елементів (рис. S4 і таблиця S4). Значення TF були відносно низькими (нижче 0,5) для Pb, Cu та As для всіх видів. Для Cd і Zn вони були вищими за одиницю, у деяких видів (максимальний TF 5,8 для Cd і 9,1 для Zn, обидва у *Populus*).

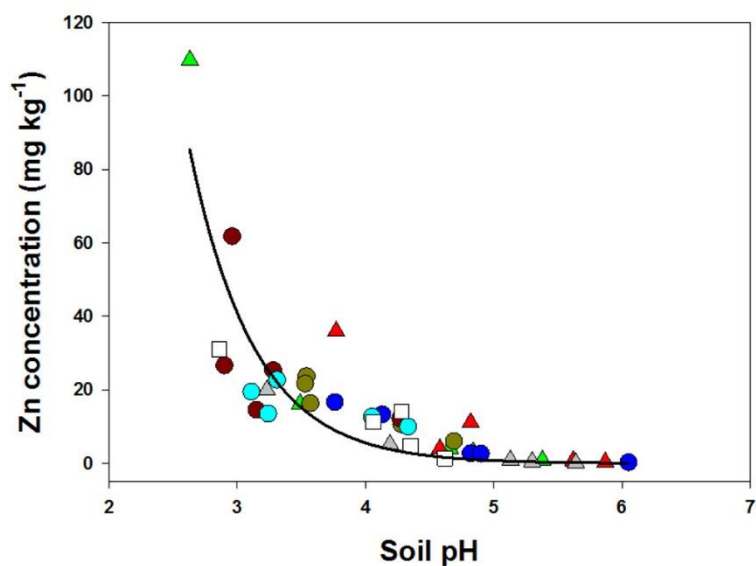
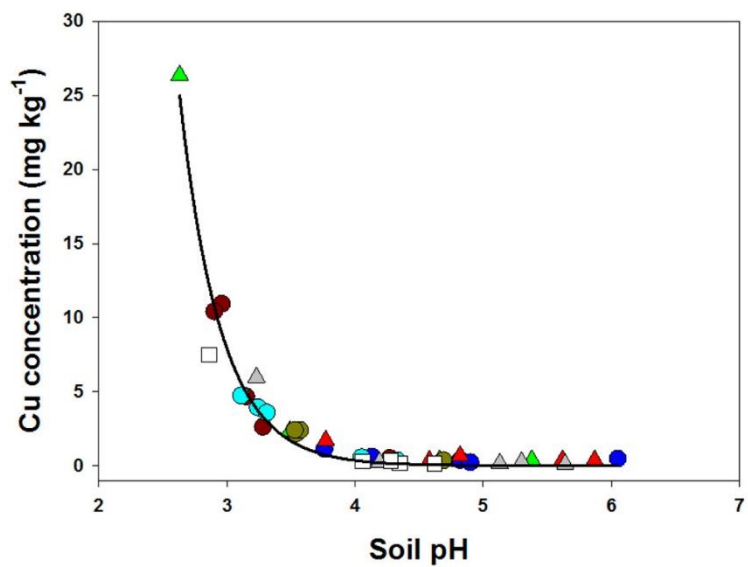
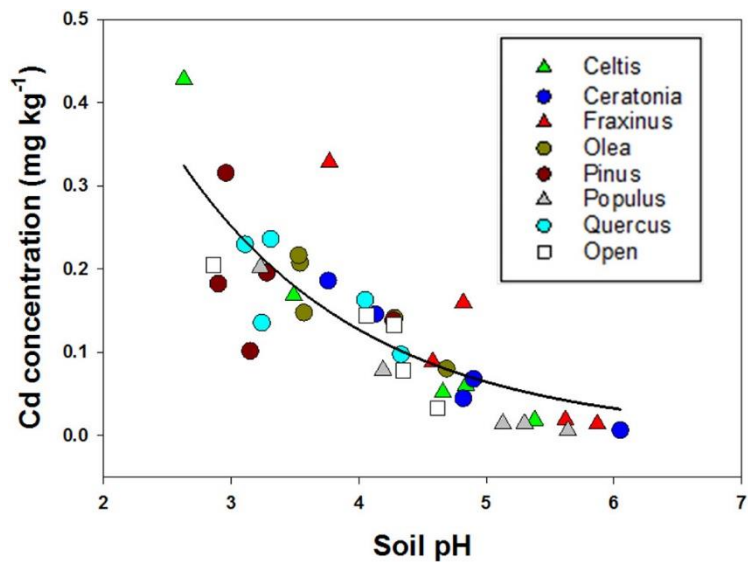


Рис. 4 . Зв'язки між рН ґрунту та доступністю Cd, Cu та Zn у ґрунті (0–10 см) під різними породами дерев та на прилеглих відкритих ділянках (дані зразків 2014 р.).

Загалом значення BCF відрізнялися для різних видів дерев, органів та елементів (табл. 1). Значення в кореннях були вищими (загальне середнє значення 0,58), ніж у листі (0,24). Серед досліджуваних ТЕ Cd показав найвищі значення BCF (BCF корення > 1) для коренів усіх видів. Серед деревних порід *Populus* накопичував найвищі концентрації Cd і Zn, у листі (BCF листя > 1).

Для фітостабілізації також важливо, щоб ТЕ, поглинені рослинами з ґрунту, повинен переважно зберігатися в коренях. Усі породи дерев мали відносно високий рівень переносу Cd із ґрунту до коренів (BCF коренів > 1), а також Cu та Zn (хоча BCF коренів < 1); однак значення коренів BCF були низькими для As і Pb. Серед порід дерев *Pinus* мав найвищий BCF коренів для Cd, а *Celtis* найвищий для Cu та Zn ( табл. 1 ).

Таблиця 1 . Біоконцентрація важких металів у органах рослин, розрахована як співвідношення елемента в рослині до елемента в ґрунті. Подано значення біоконцентрації окремо для корення та листя>1 позначені жирним шрифтом.

Види рослин		As	Cd	Cu	Pb	Zn
	Орган					
<i>Каркас південний</i>	листок	<0,01	0,27	0,06	0,01	0,28
	Корінь	0,15	<b>1.12</b>	0,72	0,33	0,81
<i>Ріжкове дерево</i>	листок	<0,01	0,29	0,02	<0,01	0,14
	Корінь	0,04	<b>1.35</b>	0,49	0,07	0,45
<i>Ясен вузьколистий</i>	листок	0,01	0,05	0,05	<0,01	0,08
	Корінь	0,07	<b>2.61</b>	0,56	0,15	0,75
<i>Маслина європейська</i>	листок	<0,01	0,06	0,04	<0,01	0,18
	Корінь	0,08	<b>1.19</b>	0,59	0,14	0,60
<i>Сосна італійська</i>	листок	<0,01	0,18	0,02	<0,01	0,29
	Корінь	0,05	<b>3.76</b>	0,49	0,09	0,65
<i>Тополя біла</i>	листок	0,01	<b>2.96</b>	0,05	<0,01	<b>1.84</b>
	Корінь	0,06	<b>1.77</b>	0,45	0,10	0,50
<i>Дуб кам'яний</i>	листок	<0,01	0,19	0,04	<0,01	0,25
	Корінь	0,01	<b>1.06</b>	0,24	0,02	0,32

## Аналіз

Висадження дерев є дуже ефективним заходом для відновлення забруднених ТЕ ґрунтів (Pulford and Dickinson, 2005). Однак не всі види дерев мають однакову здатність стабілізувати ТЕ в ґрунті. При виборі порід дерев слід враховувати кілька функціональних ознак: вони повинні бути стійкими до високих концентрацій ТЕ в ґрунті, виробляти велику кількість біомаси, мати велику та глибоку кореневу систему, витягувати ТЕ з ґрунту та утримувати їх у коренях та деревині та переміщувати до листя та плодів дуже низьку частку, щоб мінімізувати ризик токсичності для харчової мережі (Mendez and Maier, 2008 ; Bolan et al., 2011 ; Madejón et al., 2017).

Дерева є інженерами екосистем , змінюючи фізико-хімічні властивості ґрунту, кругообіг поживних речовин і мікробні спільноти (Aronte et al., 2013).

Оскільки підвищення рН ґрунту посилює зв'язування ТЕ і, отже, знижує їх біодоступність ( Domínguez et al., 2009 ;Bolan et al., 2011 ), ті породи дерев, які викликають підлужнення ґрунту, будуть більш ефективними у фітостабілізації землі, забрудненої катіонами ТЕ.

Вибір породи дерева має вирішальне значення для успіху ремедіації. Для деяких видів дерев ( Fraxinus , Ceratonia та Populus ) рН ґрунту під деревами підвищився, що призвело до зниження доступності ґрунту Cd, Cu та Zn. Навпаки, інші види ( Pinus і Quercus ) мали тенденцію підкислювати ґрунт і, таким чином, підвищували рухливість ТЕ в екосистемі; отже, вони не придатні для фітостабілізації ТЕ, але можуть розглядатися для біоекстракції.

Загальним критерієм відбору рослин, які найкраще підходять для фітостабілізації ґрунтів, забруднених ТЕ, є низька транслокація, коли TF якомога нижчий, маючи значення  $TF < 1$  (Mendez and Maier, 2008; Bolan et al., 2011). У цьому дослідженні [32] більшість видів відповідали цьому критерію та були придатні для фітостабілізації, за винятком видів Populus , які накопичували високі концентрації Cd (TF 2,16) і Zn у листі. Наприклад, деревними породами з найнижчим TF для Cd були Fraxinus (0,02), Olea (0,05) і Pinus (0,05).

Тобто, досліджувані види дерев мали високий рівень поглинання та утримування кадмію своїм корінням, і всі (крім Populus) мали низьку транслокацію від коренів до листя, таким чином відповідаючи критерію фітостабілізації. Populus накопичував важкі метали в надземних органах (листках, плодах, насінні), через що є непридатним для фітостабілізації, але це свідчить, що він здатен використовуватися у фітоекстракції.

Лабораторні дослідження [9] показують, що кількість металів, видалених рослинами, пов'язана із загальною кількістю, наявною в ґрунті. Тому,

порівнюючи ефективність фітоекстракції Cr, Cu, Ni та Zn кількома гіперакумуляторами, необхідно враховувати відносні значення концентрації Cu, Cr, Ni та Zn у ґрунті, щоб точно оцінити ефективність фітоекстракції Cu, Cr, Ni та Zn. Чим вища концентрація Cu, Cr, Ni та Zn у ґрунті, тим більше Cu, Cr, Ni та Zn витягується рослинами, незважаючи на те, що ефективність фітоекстракції гіперакумуляторів знижується із збільшенням концентрації металу

У дослідженні [7] було доведено, що абсолютна кількість кадмію, вилученого з ґрунту вербою, набагато вища, ніж витягнута гіперакумуляторами з низькою біомасою, такими як *Thlaspi caerulescens* (Greger and Landberg, 1999). У цьому дослідженні біомаса трьох генотипів вирощувалася на сильно забрудненому місці KJ не було знижено порівняно з рослинами, вирощеними на ділянці BGZ, що означає, що вони показали багатообіцяючу толерантність Cd та біонакопичення; таким чином, їх можна вважати альтернативними генотипами для фіторемедіації. Тим не менш, спостерігалася помітна генотипова мінливість у межах верби щодо накопичення Cd. Генотип J1011 продемонстрував більше накопичення Cd, ніж два інших генотипи. Таким чином, його можна вважати генотипом-кандидатом для фіторемедіації та заслуговує на подальшу увагу для його використання на забруднених Cd ділянках.

[47] Проведення великих польових випробувань є ключовим етапом для отримання теоретичних і технічних знань у фітотехнологіях. Дане масштабне дослідження вказало на складність екологічних процесів, які не враховуються в тепличних експериментах. Інокуляція мікоризними грибами ефективна для зменшення накопичення Zn, Cu, Pb і Cr у листі Skado у сильно забруднених районах. Така ж тенденція спостерігалася і на більшості ділянок, засіяних клонами I-214. Таким чином, мікоризні гриби по-різному взаємодіяли з тополями залежно від сортів, фізико-хімічних властивостей ґрунту та умов, характерних для кожної ділянки (рослинність, місцеві мікробні спільноти тощо). З точки зору територіального та сталого розвитку, використання тополь, інокульованих мікоризою, в більшості випадків є ефективним (у сильно забруднених районах), але необхідні подальші дослідження.

У дослідженні [43] сімнадцять сортів верби продемонстрували велику варіабельність виробництва біомаси. Owasco створив найбільшу біомасу пагонів (11,7 г на рослину-1 ) і кореневої біомаси (1,6 г на рослину-1 ) з обробкою кадмієм і без неї, і це майже в 20 разів перевищувало найменшу вироблену біомасу пагонів і коренів, зареєстровану в сортах *S. purpurea* , включаючи FC185. , FC187, FC189 і Pur12. Інші сорти показали помірне виробництво біомаси в контрольній групі та обробці Cd.

Використання чагарникових верб для фіторемедіації все ще не надто поширене (Kuzovkina and Volk, 2009 ; Smart et al., 2005 ; Townsend et al., 2018), і значну кількість нових сортів все ще потрібно випробувати перед тим, як їх можна застосовувати в польових умовах. Крім того, бракує інформації про те, чи здатні нові гібриди накопичувати важких металів у порівнянні із своїми попередниками. У цьому дослідженні автори припускали, що *S. purpurea* буде одним із найпродуктивніших сортів при впливі Cd. Однак більшість сортів *S. purpurea* не виробляли більшої біомаси у експерименті, ніж інші. У цьому дослідженні спостерігалось сильне зростання сорту Owasco, і він дав найбільшу біомасу серед сімнадцяти сортів. Попередні дослідження повідомляють, що його врожайність була нижчою, ніж Millbrook, SX61, Allegany, Oneida та Marcy. Автори роблять припущення, що така різниця зумовлена різницею в умовах вирощування. Рослини могли мати різну продуктивність біомаси через фактори навколишнього середовища, пов'язані з родючістю ґрунту, кліматом і тиском бур'янів. Через постійне виведення нових високоврожайних та сильноочищувальних сортів, ми припускаємо, що польові дослідження із наближеними умовами до забруднених ділянок України є обов'язковим перед вкладанням коштів у дендроремедіацію.

Було показано, що генетична мінливість у перевірених сортах верби до накопичення Cd є велика. Гетерозис кадмію в листі зустрічається серед різних гібридів, а сорти з вищою концентрацією кадмію в листі зазвичай дають гібриди з вищою здатністю до накопичення кадмію, і їх можна використовувати як ефективні для кадмію батьки. Однак характеристики з високим вмістом Cd необхідно поєднувати з багатьма іншими факторами, такими як виробництво біомаси, рівень забруднення та стійкість до інших біотичних або абіотичних стресів. Серед цих комбінованих факторів виробництво біомаси видається найважливішим, оскільки врожайність зазвичай розглядається як комплексна ознака, яка може відображати інтегрований вплив різних факторів на ріст рослин. Дослідження також показало, що виробництво біомаси сильно корелює не тільки з концентрацією кадмію в тканинах, але й із загальним поглинанням кадмію, підтверджуючи, що більш високе виробництво біомаси пов'язане з вищим поглинанням кадмію, а біомаса пагонів є важливішою за інші фактори для прогнозування накопичувальної здатності кадмію у вибраних сортах верби.

[49] Токсичність важких металів можна запобігти за допомогою механізмів уникнення, таких як кореневі екsudати (Zhi та ін., 2020) та мікоризні асоціації (de Souza та ін., 2012), клітинні (Choi та ін., 2004 ; Lavid та ін., 2001) та субклітинної (Kawachi та ін., 2008 ; Thomine та ін., 2000) секвестрації або біохімічного покращення (Semane та ін., 2007 ; Kerkeb та Krämer, 2003). Механізми толерантності можуть бути використані для підвищення толерантності та

накопичення певних важких металів. Екзогенна обробка фітогормоном АВА зменшила накопичення Zn у *Populus x canescens*, ймовірно, через зміни в транскрипції кількох ключових генів, залучених до поглинання цинку. Завдяки надмірній експресії  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази з бактерій в іншому гібриді *Populus* дослідники змогли стимулювати виробництво попередника фітохелатинів, глутатіону, і значно збільшити накопичення Cd і детоксикацію в трансгенних рослинах порівняно з рослинами дикого типу (He et al., 2015). Було також показано, що екзогенне застосування глутатіону стимулює накопичення Cd у *Populus* (Ding et al., 2017).

Фітоекстракція цинку з ґрунту є особливо складною, враховуючи, що як мікроелемент він необхідний для росту рослин, але токсичний для більшості видів у підвищених концентраціях. Таким чином, гомеостаз Zn сильно регулюється в рослинах. (поміняй цинк на усі метали)

Поглинання важких металів рослинами є суворо регульованим процесом. Це значною мірою пов'язано з тим, що деякі важкі метали, такі як мідь, нікель і цинк, є одними з основних мікроелементів, необхідних для росту рослин, тоді як інші, такі як кадмій, хром і свинець, можуть бути токсичними навіть у дуже низьких концентраціях (Marschner, 2012; Nagajyoti та ін., 2010).

Варто зазначити, що плямисте забруднення ефективно піддається ремедіації. У випадку неоднорідного забруднення рослина інтенсифікує ріст коренів у менш забруднений бік, що дозволяє отримати досить високі показники наземної біомаси, порівняні із показниками рослин на чистому субстраті. Разом із тим, у такому випадку відбувається значне накопичення рослиною важкого металу як і у корені, що призводить до фітоаккумуляції забрудника, так і у пагоні (хоч і у помітно менших величинах), що робить можливим фітоекстракцію.

[52], [54] – напиши.

[59] Концентрація Pb в SPW була ефективно знижена на 83–99% після застосування додатків, на нашу думку через здатність біовугілля знижувати біодоступність і рухливість Pb (Beesley et al., 2011; Paz-Ferreiro et al., 2014). Крім того, це зниження біодоступності/рухливості Pb може бути пов'язано зі здатністю біовугілля фіксувати Pb шляхом сорбції його поверхні (Beesley et al., 2011). Ефективна іммобілізація важких металів у ґрунті залежить від типу використовуваного біовугілля. Наприклад Park et al. (2011a) застосували два біовугілля до ґрунту із вмістом кадмію, міді та свинцю, і виявив, що біовугілля з курячого посліду ефективніше у зменшенні екстрагованих фракцій металів, ніж біовугілля із зелених відходів. Власне з цього дослідження видно, що біовугілля листяної та легкої деревини ефективніше, ніж біовугілля сосни для іммобілізації Pb.



[60] PW та обробка забрудненого ґрунту без змін призвели до вищих концентрацій металів у тканинах рослин порівняно з контрольною та TW повторенням (рис. 4 та рис. 5). Це може бути пов'язано з підвищеним вмістом металів у ґрунті та обробленій воді. *Salix* поглинає значну кількість забруднюючих речовин із промислових стічних вод (Akhtar et al., 2012, Salam et al., 2016). Ґрунті без змін і обробленому ґрунті з додаванням вапна найбільше накопичення металів було виявлено в коренях, потім у пагонах і листках відповідно, тоді як Zn переважно накопичувався в коренях, потім у листі та пагонах. Причиною може бути те, що коріння мають сильну спорідненість до металів, яка обмежена поверхнею кореня (Sahi et al., 2007). Виявлено позитивну кореляцію між концентрацією металу в пагонах і концентрацією металу/металоїду в коренях. Також виявлено позитивну кореляцію ( $r = 0,79-0,92$ ,  $p > 0,001$ ) між концентрацією Cu в коренях і концентрацією Ni в коренях; концентрація Zn в коренях і концентрація Ni в коренях; концентрація Cu в коренях і концентрація Zn в коренях; концентрація Cu в листках і концентрація Ni в листках; концентрація Zn в листі та концентрація Ni в листі; концентрація Cu в листках і концентрація Zn в листках. Це означає, що Cu, Zn і Ni можуть мати подібний механізм поглинання (Hassinen et al., 2009). За умов обробки ґрунту з поправками N100 та комбінації обробок ґрунту вапном– і N100– метали здебільшого накопичувалися в пагонах, а потім у коренях і листі. Ріст рослин, поглинання поживних речовин і води прискорювалися, коли ґрунти доповнювали органічними добривами, вапном і N100, що покращувало мікросередовище ґрунту, біодоступність і рухливість металів у кореневій системі, таким чином підвищуючи ефективність транслокації та фітоекстракції (Beesley et al., 2011, Бетті та Долан, 2013, Салам та ін., 2019). Хелати утворюють термодинамічно стабільні та розчинні комплекси та зазвичай виявляють значну спорідненість до металів, наявних у ґрунті. Хелат N100 помірно розчинний у воді, і нерозчинний у воді під час процесу хелатування металів, і є чудовим накопичувачем широкого спектру катіонів металів (Turhanen та ін., 2015). Додавання N100 прискорило поглинання металів K і Ca, а також значно збільшило швидкість накопичення цих металів у рослинних тканинах. Це може бути пов'язано з ефективним утворенням хелатів з йонами металів, які зменшують токсичну дію металів, але збільшують мобілізацію та здатність до зв'язування (Abdou and Shaddy, 2009, Mohsin et al., 2018). Крім того, це може бути пов'язано з підвищенням ефективності параметрів газообміну (Habiba et al., 2015). Хелатор N100 має потенціал для поглинання Cu, Zn, Ni, Pb, Cd і Cr із шахтних стічних вод (Turhanen et al., 2015) і ці результати узгоджуються з попередніми висновками, які повідомляють про вплив хелатів на ріст і ефективність поглинання металу в *Salix* (Afshan та ін., 2015). Результати показали, що N100 та комбінація вапна та N100 збільшили мобілізацію металу від кореня до надземних частин рослини (Mohsin та ін., 2018, Салам та ін., 2019).

Комплекси метал-хелатор зазвичай поглинаються корінням рослин шляхом дифузії (Khan et al., 2016). Таким чином, хелат N100, доданий до ґрунту, не тільки збільшує рухливість металів у ґрунті, але також призводить до більш високого поглинання та подальшого переміщення металів до надземних частин рослин, придатних для збирання (Alanne та ін., 2013) . Хелати збільшують поглинання металів рослинами (Xiao et al., 2017), а N100 та вапно значно знижують ризик вимивання (Mohsin та ін., 2018 , Салам та ін., 2019).

Purdy and Smart (2008) виявили, що додавання фосфату в експериментах на гідропоніці зменшує токсичність As і збільшує накопичення в надземних тканинах Salix. За даними Karaca та ін. (2018), гумусові речовини можуть бути альтернативою для видалення Cd, Cu, Ni, Pb і Zn зі старих забруднених шахтних ґрунтів. Додавання біовугілля до ґрунту призводить до більш високого рівня накопичення металу/металоїду в коренях (порівняно з пагонами та листям) Salix, вирощеного на ґрунтах, забруднених Pb, As та Cu. Знижена транслокація до надземних тканин може бути захисним механізмом для збереження фотосинтетичного апарату від токсичних рівнів металів/металоїдів (Lebrun et al., 2018).

У експерименті [61] *P. × euramericana* клон Adda продемонстрував зниження всіх параметрів росту після 34 днів обробки при концентраціях Cu 100 мкМ або більше. Оскільки також спостерігалось зменшення біомаси коренів, можна припустити, що якраз малий розмір та менша ефективність кореневої системи призвела до загального зниження росту рослин. Рослини, оброблені 20 мкМ Cu, не показали жодного зниження потенціалу росту порівняно з контролем, таким чином демонструючи здатність *P. × euramericana* клон Adda до витримування досить високих рівнів Cu. При концентрації Cu 20 мкМ вміст і концентрація металу в листках збільшувалися. Між листям контрольних рослин і рослинами, обробленими 100 мкМ Cu або більше, жодної суттєвої різниці в концентраціях Cu не спостерігалось. Поглинання Cu надземними тканинами клону Adda було відносно обмеженим і більша частина Cu була локалізована в кореневій системі. У коренях мідь в основному зв'язана з карбоновими групами пектинів і полігалактуронової кислоти, а також з N-вмісними групами білків і ферментів клітинної стінки ( Marschner, 1995). Як альтернатива механізмам накопичення в тканинах коренів, низький транспорт Cu до надземних органів рослин може бути пов'язаний із зв'язуванням металу з поверхніми судин ксилеми ( Nissen and Lepp, 1997 ). Тополя має великий кореневий апарат, здатний досягати глибоких шарів ґрунту, зв'язувати велику кількість Cu (рис. 2 с), і з цієї причини він може бути хорошим кандидатом для фітостабілізації ділянок, забруднених Cu.

Серед різних фітотехнологій, які можуть бути застосовані на великих забруднених територіях, допоміжна фітостабілізація спрямована на

використання рослин і біологічних або хімічних поправок для утримання забруднюючих речовин у ґрунтах шляхом поглинання коренями, хелатування або зменшення ( Mench et al., 2010 ). Швидко зростаючі породи дерев, такі як верби та тополі, вважаються придатними для фітостабілізації через їх високу біомасу та їхню широку кореневу систему, яка може захистити поверхню ґрунту від ерозії ( Pulford and Watson, 2003 ). Крім того, ця стратегія базується на виборі сортів, які менше накопичують, щоб уникнути або обмежити передачу забруднюючих речовин у харчовому ланцюзі та в кінцевих продуктах після процесу переробки деревини (Берт та ін., 2017 ).

Біологічні зміни, такі як мікоризні гриби, протягом тривалого часу вважалися відповідними мікроорганізмами для допомоги у відновленні або покращенні занедбаних ґрунтів. Дійсно, коли тополі асоціюються з ендомікоризними грибами, вони демонструють підвищену толерантність до біотичного та абіотичного стресу, з кращим ростом і вищим виробництвом біомаси ( Cicatelli et al., 2014 ). Коли рослини вводяться для відновлення місця, успіх цих рослин на місці, ймовірно, залежатиме від залучення відповідних ризосферних мікроорганізмів із їхнього нового середовища ( Bell et al., 2015 ). У недавньому дослідженні ми продемонстрували, що поява та стійкість ектомікоризних симбіонтів значною мірою залежали від характеристик місця ( Foulon та ін., 2016 ). Таким чином, інокуляція мікоризи на плантації може бути необхідною або для покращення мікоризної інфекції за відсутності місцевих симбіонтів, або для покращення конкурентоспроможності та толерантності мікоризного мікробіому .

Більшість досліджень на сьогоднішній день пропонують адекватні комбінації дерева/екто- або ендомікоризи для збільшення ( Cicatelli та ін., 2010 , Sell та ін., 2005 ) або зменшення ( Wojarczuk та Kieliszewska-Rokicka, 2010 , Mrnka та ін., 2012 ) Перенесення РТЕ з ґрунту в надземні рослинні тканини. Colpaert та ін. (2011) вказали на той факт, що більшість цих досліджень базувалися виключно на експериментах у горщиках/теплицях, а польові дослідження залишалися незначними. Визнається, що екстраполяція з лабораторії/оранжереї на поле не є надійною, оскільки перенесення ПТЕ з ґрунту на рослину є складним процесом, який регулюється геохімічними, кліматичними, біологічними та антропогенними факторами ( Kabata-Pendias, 2004).

У недавній статті продемонстровано, що екто- та ендомікоризна інокуляція значно збільшила виробництво біомаси тополі на фітокерованих ділянках (Ciadamidaro et al., 2017).

[7]Фітоекстракція за допомогою мікробів може бути ідеальною для рекультивативації забруднених важкими металами ґрунтів, і за останні десятиліття

було виділено тисячі корисних мікроорганізмів (Hou et al., 2017). Проте покращення фітоекстракції металу пояснюється всією мікробіотою, а не одним таксоном: інокульовані мікроби зазвичай розбавляються природними мікробами, втрачаючи свою ефективність у цільовому середовищі (JT Li et al., 2017). Складність взаємодії між рослиною та пов'язаною з нею мікробною спільнотою робить оптимізацію фіторемедіації дуже важкою (Yergeau та ін., 2018). Розуміння процесів, які відбуваються в ризосфері, взаємодії між рослинами та мікробами, все ще обмежене, що перешкоджає максимізації потенціалу використання мікробіоти для фітоекстракції (Hou et al., 2017).

Аналіз наукової літератури показав, що поєднуватися дендроремедіацію та вирощування біопалива в межах України є можливим. Ми рекомендуємо вирощувати сучасні клони верби, тополю та березу. Верба підходить для очищення лісових та лісостепових територій, та є найефективнішим очисником і найпродуктивнішою культурою з погляду виробництва біопалива. Проте у степовій зоні варто використовувати тополю, як вид, що потребує менше води.

[34] Разом з тим потрібно розглядати і менш традиційні для нашого підсоння енергетичні культури, як-от піонерний вид *Robinia pseudoacacia*, який є перспективною деревною бобовою рослиною для фіторемедіації в забруднені важкими металами території. Цей вид також швидко росте, має глибоку кореневу систему, стійкий до важких металів і ще має здатність фіксувати атмосферний азот. (Vlachodimos та ін., 2013)

Дендроремедіація є тривалим процесом. Скільки років займе очищення конкретної ділянки залежить від багатьох факторів, таких як клімат, тип ґрунту, якими саме металами і в яких кількостях забруднений ґрунт, чи наявні, і які саме, супроводжуючі біологічні забруднювачі, наприклад поліароматичні вуглеводні, нерівномірний розподіл забруднювача. Не меншим чином впливає техніка культивування культури, клони, що використовуються. Рекультивація може відбуватися як і кілька років, так і десятиліттями. Тому ми вважаємо за необхідне іти одним з двох наступних шляхів.

Перший полягає у максимальному пришвидшенні ремедіації. У такому разі варто використовувати біопрепарати, які міститимуть націлені спільноти мікробів та спори грибів, що прискорюватимуть біоаккумуляцію чи біоекстракцію, застосовувати лужні реагенти, такі як вапно або попіл, вносити хелати, збирати листя, викорчовувати коріння. Таким чином зниження рівня вмісту металу у ґрунті відбудеться значно швидше, і з'явиться можливість швидше перейти до прибуткових форм сільського господарства. Такі фінансові витрати виправдані, якщо опісля на очищеній території буде здійснюватися високоприбуткова діяльність, така як овочівництво, виноградарство тощо.

Другим шляхом є неінтесифікована дендроремедіація. Інтенсифікування процесу ремедіації вимагає значних вкладень, особливо збір листя та корчування. Продаж деревини на біопаливо у такому випадку стає не вигідним. Тому є доцільним проводити ремедіацію без додаткових заходів. Відновлення ґрунтів у такому випадку займатиме тривалий період, в окремих випадках десятки років, проте для багатьох ділянок це не є негативним сценарієм, адже вирощування біопалива є привабливим і у плані фінансової вигоди, і у плані екосистемних та соціальних послуг, та успішно замінить вирощування невисокоприбуткових культур, наприклад, зернових. Вирощування енергетичних культур має потенціал забезпечити повне відновлення ґрунтів України та на десятиліття стати системоутворюючим видом економічної діяльності для великого числа сільських громад України.

Особливою проблемою і відмінністю військових забруднень від усіх інших є їхня неоднорідність. Більшість забруднювачів мирного часу, як-от гірничо-збагачувальні комбінати, металоплавильні заводи, хвостосховища, мулонакопичувачі, терикони забруднюють довкілля через перенесення забрудників повітрям, рідше водою. Через це характер забруднення дифузний, важкий метал рівномірно розповсюджений у полі, що підлягає ремедіації. Поширення ж забрудника військового походження часто пов'язане із потраплянням у ґрунт частинок знарядів, транспорту, споруд. Як наслідок навіть після відносно тривалої корозії, поширення металу характеризується наявністю епіцентру. Таке поле матиме ділянки із невисоким вмістом металу, що успішно піддається ремедіації, точки дуже високо забруднення, у яких саджанці культури будуть гинути, та, у перший час, відносно незабруднені ділянки.

Важливо було дослідити чи будуть здатні енергетичні деревні культури здатні до ремедіації за таких умов. Аналізуючи наукову літературу ми дійшли до висновку, що фіторемедіація в умовах плямистого забруднення буде успішною. У той час як сильне рівномірне забруднення викликає серйозне зниження росту у основних для нашого клімату ремедіативних культур – верби та тополі, частково забруднений ґрунт призводить до зниження біомаси пагонів і коренів у тополі, але слабо впливає на параметри росту пагонів верби, і стимулює значне збільшення біомаси коренів. Обидві рослини продемонструють реакцію уникнення важких металів. Корені, що піддаються впливу підвищених концентрацій припиняють рости й ресурси рослини інвестуються у ріст коренів в менш забруднені ділянки ґрунту. Використання верби є оптимальним, якщо ділянка, що підлягає ремедіації достатньо забезпечена вологою. У випадку неоднорідного забруднення верба інтенсифікує ріст коренів у менш забруднений бік, що дозволяє отримати досить високі показники наземної біомаси, порівняні із показниками на чистому субстраті. Також, у такому випадку відбувається

значне накопичення рослиною важкого металу як і у корені, що призводить до акумуляції металу, так і у пагоні (хоч і у менших величинах), що робить можливим фітоекстракцію.

[56] Однак існує загальний брак досліджень щодо зв'язку між факторами навколишнього середовища в польових умовах та ефективністю повномасштабної фіторемедіації. Рой та ін. виявили, що фітоекстракція стає менш ефективною, коли ґрунт, забруднений важкими металами, змішується з органічними забрудненнями (Рой та ін., 2005). Laval-Gilly та ін. виявили, що окрім важких металів, накопичення інших елементів, таких як калій, також може спричинити такі проблеми, як забруднення та утворення шлаку в установках спалювання (Laval-Gilly et al., 2017).