

УДК 581\*8:635

# НЕЙРОСЕТЕВОЙ КОГНИТИВНЫЙ АНАЛИЗ АККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ РАСТЕНИЯМИ БАРХАТЦЫ

© 2024 г. Я. В. Пухальский<sup>1,2</sup>, Н. И. Воробьев<sup>3</sup>, С. И. Лоскутов<sup>1,2</sup>,  
М. А. Чукаева<sup>4</sup>, В. Р. Сидорова<sup>4</sup>, В. А. Матвеева<sup>4</sup>

Поступило 23.10.2023 г.

После доработки 22.12.2023 г.

Принято к публикации 25.12.2023 г.

Представлены результаты исследований по оценке влияния гуминовых кислот, взятых в концентрации 250 ppm, на процесс индуцированной фитоэкстракции тяжелых металлов из почв, отобранных вблизи Норильска. Фитоэкстракцию осуществляли разными видами растений из рода бархатцы: отклоненные (*Tagetes patula*) и прямостоячие (*Tagetes erecta*). Исследования проводились в тепличных условиях при контролируемом спектральном освещении (светокультуре). Длительность опыта составила 21 сутки. Временной интервал вегетации был выбран исходя из условий короткого летнего периода, свойственного для данного региона, где более рационально вести учет системного выноса токсикантов из загрязненных почв путем нескольких циклов их посева/среза за сезон уже на ювенильной фазе онтогенеза. Для элементного анализа использовался метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Для оценки уровня эффективности аккумуляции металлов автoрами была разработана и использовалась оригинальная вычислительная нейронная сеть CompNN, позволяющая проводить расчет индекса когнитивной значимости (CSI) по эмпирическим данным накопления токсикантов, как в побегах, так и корнях растений. Результаты исследования показали, что внесение в почву органической добавки в виде гуминовых кислот привело к ингибированию роста надземной части *T. patula*. Что касается *T. erecta*, то скорость накопления зеленой биомассы растений не менялась при внесении гуминовых кислот. Снижение биомассы побегов растений *T. patula* объясняется увеличением аккумуляции в них металлов в среднем по вариантам на 91.6%. Содержание металлов в побегах *T. erecta* под воздействием гуминовых кислот, наоборот, снижалось, в среднем на 17.3%. Похожий результат наблюдался и в отношении корневой зоны: тенденция изменения в закреплении металлов для обоих видов растений здесь составила 40.8% и 10.8% соответственно. Вычисление индексов CSI также показало, что при добавлении гуминовых кислот у *T. patula* интенсивность аккумуляции металлов из почвы в своей биомассе во всех вариантах увеличивается, а у *T. erecta*, напротив, снижается. Проведенный кластерный анализ продемонстрировал закрепление металлов в основной буферной зоне растений, а также позволил выделить никель в отдельный гомогенный ряд. В отношении распределения данного элемента в побегах по вариантам опыт показал, что он продемонстрировал здесь близость схождения с медью. Коэффициенты корреляции их накопления с индексом CSI в побегах обоих растений составили  $r = 0.82$ ;  $0.87$  для Cu и  $r = 0.87$ ;  $0.83$  для Ni. Близость данных значений указывает на приоритетный характер аккумуляции этих металлов в растительной биомассе бархатцев, а также характеризует проявление определенных взаимодействий между ними в загрязненной почве по типу антагонизма или синергизма.

**Ключевые слова:** *Tagetes*, тяжелые металлы, фиторемедиация, рекуррентная нейронная сеть, индекс когнитивной значимости

**DOI:** 10.31857/S2686739724040161

## ВВЕДЕНИЕ

Анализ научной литературы показал, что в качестве потенциальных кандидатов для детоксикации загрязненных почв от тяжелых металлов (ТМ) актуально использовать цветочно-декоративные культуры [1–3]. Проявляя эстетичные достоинства и устойчивость к воздействию стрессов, данные растения активно применяются при создании мавританских

<sup>1</sup>Ленинградский государственный университет им. А. С. Пушкина, Санкт-Петербург, г. Пушкин, Россия

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, г. Пушкин, Россия

<sup>4</sup>Санкт-Петербургский Горный Университет, Санкт-Петербург, Россия

газонов или газонов смешанного типа (при их совместной посадке со злаками) [4]. Таким образом, выполняя важную экологическую функцию, они удачно впишутся в уже существующую технологию биологической рекультивации техногенно-нарушенных территорий — фиторемедиации. Важно отметить, что подобные растения не используются в пищу, тем самым снижается риск попадания токсикантов в конечное звено трофической цепочки, организм человека.

Среди потенциальных кандидатов для фиторемедиации ТМ можно выделить растения, относящиеся к роду бархатцы: вид прямостоящих (*Tagetes erecta*) и отклоненных (*Tagetes patula*). За счет большого потенциала устойчивости к воздействию разных токсикантов эти растения могут быстро набирать биомассу на загрязненных почвах и развивать мощную корневую систему. Показано, что по масштабам фитоэкстракции ТМ из загрязненных почв растения *T. erecta* превосходят растения *T. patula*, так как первые набирают большую биомассу. Существует также разница в накоплении ТМ бархатцами разной цветовой окраски соцветий. Поэтому предпочтительнее использовать сразу смесь сортовых линий.

Наиболее подходящим способом фиторемедиации является непрерывная фитоэкстракция. Суть ее состоит в том, что подвижные формы токсикантов поглощаются из ризосферы вместе с водой корневой системой растений и далее транспортируются в надземную часть растений, где также происходит их закрепление в клеточных структурах.

Фитоэкстракция характеризуется высокой эффективностью устранения поверхностного загрязнения почв и относительной простотой ее исполнения. Этот способ очистки земель не требует высокой квалификации у обслуживающего персонала и применения сложного оборудования. При фитоэкстракции требуется лишь грамотно подобрать вид декоративного культивара, акклиматизированного к условиям конкретного региона и адаптивного к высоким нормам моно- или полиметаллического характера загрязнения, высадить его на загрязненной местности, а после уборки утилизировать загрязненную биомассу путем сжигания. Учитывая тот факт, что зола, полученная при сжигании экстрагированных растений, содержит значительное количество металлов, после ее разбавления может использоваться повторно уже в виде микроудобрений. Извлеченные из золы металлы могут использоваться и в цветной металлургии — фитомайнинг.

Есть данные, что эфирные масла из ароматических культур в значительной степени не загрязнены ТМ [5]. Поэтому биомасса данных цветочных культур, выращенных на загрязненных ТМ почвах, может использоваться в парфюмерной промышленности.

Метод фитоэкстракции является наименее затратным и трудоемким по сравнению с традиционными способами очистки почв, основанными на применении химических реагентов (кислотный или щелочной гидролиз), либо физическом удалении верхнего загрязненного слоя для последующего биовосстановления (ландфарминг) или полной его замене другим. По экономическим оценкам, затраты на проведение очистки почвы методом фитоэкстракции составляют около 0.05 долл. на 1 м<sup>3</sup> почвы, тогда как стоимость традиционных методов детоксикации варьирует от 10 до 1000 долл. на 1 м<sup>3</sup> почвы [6, 7]. Несмотря на явные преимущества, технология фитоэкстракции имеет и свои недостатки. Так, помимо вышеназванного контроля над утилизацией получаемой биомассы, отходы фитоэкстракции классифицируются как опасные. Главной проблемой остается длительность процесса санации загрязненной территории, которая решается совместным использованием органических хелатообразующих соединений и бактериальных биопрепаратов. Такая фитоэкстракция называется индуцированной.

Индукцированная фитоэкстракция ТМ из загрязненных почв с использованием декоративных культур активно проводится за рубежом. В США на фитоэкстракцию ежегодно тратится 100–150 млн долларов, что составляет 0.5% от всех затрат на очистку окружающей среды. В Европе выделяются целые индустриальные парки (Гринфилды и Браунфилды) для проведения подобных исследований. Правительства развивающихся стран также стимулируют фермеров и аграриев заниматься разведением семенников цветочно-декоративных растений-фитоэкстракторов для получения дохода в госбюджет от их экспорта. В России исследования фитоэкстракционных технологий с использованием декоративных растений для очистки земель, загрязненных ТМ, пока не получили должного широкого распространения. При выборе данных культур при создании декоративных газонов акцент по-прежнему ставится на их эстетическом восприятии. Однако существующее сокращение импорта семян фитоэкстракционных растений, в результате вводимых в стране санкций, главным образом из цветочных хабов

(бирж) Голландии, потребует от государства развивать собственную селекционную базу устойчивых сортов подобных культур, акклиматизированных к местным почвенно-климатическим условиям.

При индуцированной фитоэкстракции ТМ применяются гуминовые кислоты (ГК) — сложные гетерогенные смеси устойчивых к биодеструкции высокомолекулярных темноокрашенных соединений природного происхождения, образующиеся при разложении остатков растительного и животного происхождения под воздействием микроорганизмов и абиотических факторов среды, в условиях недостатка кислорода. Они составляют основную часть горючих полезных ископаемых (каустобиолитов) — горючих сланцев, ископаемых углей, торфов. Биопротекторная функция данных органических макромолекул обусловлена наличием в их строении карбоксильных и фенольных групп, связывающих ТМ в среде в прочные (стабильные) комплексы.

Целью данного исследования являлось изучение влияния ГК на процесс фитоэкстракции ТМ из загрязненных почв разными видами растений бархатцев.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Для постановки опыта проводили отбор почвенных проб на территории Норильского промышленного региона, характеризующегося повышенным уровнем загрязнения ТМ. Точки опробования устанавливались с учетом основного направления ветра (юго-восточный 31%) в зоне воздействия различных техногенных объектов (точка 1 и точки 3–5), а также на восточной границе жилой зоны г. Норильск (точка 2). К приоритетным поллютантам здесь относятся медь Cu, цинк Zn, хром Cr и никель Ni. Анализ содержания валовых и подвижных форм этих элементов, а также дополнительно стронция Sr и ванадия V, выявленных в значительных количествах по результатам полуколичественного анализа, проводился на атомно-эмиссионном спектрометре ICPE-9000 (“Shimadzu”, Япония) согласно методике М—МВИ-80—2008.

Вегетационный эксперимент с выращиванием бархатцев на отобранных образцах почвы был проведен в 2022 году в научно-образовательном центре интенсивного растениеводства “Зимний сад”, созданном при ЛГУ им. А.С. Пушкина (г. Санкт-Петербург). Растительным объектом для исследования фитоэкстракции ТМ

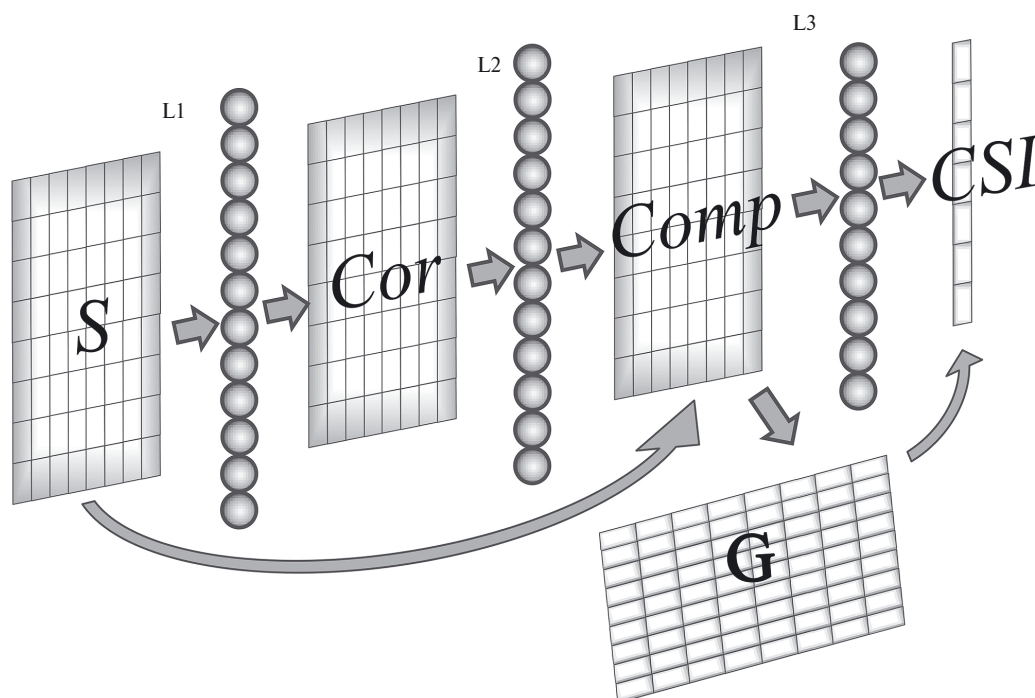
были выбраны растения *T. erecta* сорт Инка II Mix (Syngenta) и *T. patula* сорт Бонанза Би (PanAmerican Seed). Подобно гидропонным опытам при первичном скрининге сортов, растения выращивали в течение 21 суток. Временной интервал для опыта был выбран исходя из работы Ягдаровой [8], где на примере накопления свинца, было показано, что аккумуляция токсиканта в вегетационной массе имматурных растений (прегенеративный период) не сильно отличалась от его накопления у виргинильных растений (генеративный период). В связи с чем было сделано предположение, что в условиях короткого летнего вегетационного периода в Норильске более рационально вести учет системного выноса токсикантов из загрязненных почв, не дожидаясь цветения растений, путем нескольких циклов их посева/среза за сезон на ювенильной фазе онтогенеза.

Семена растений сеяли в пластиковые кассеты с 54 ячейками, заполненные увлажненной до 60% полной полевой влагоемкости (ППВ) почвой. Кассеты помещали в закрытый климатический гроубокс (150x150x150 см) с вентиляцией и интенсивной светокulturой. Температура воздуха внутри рабочей зоны бокса поддерживалась на уровне 25–27°C днем и 12–14°C ночью, что соответствует среднемесячным температурам в Норильске в летнее время. Относительная влажность воздуха поддерживалась на уровне 65%. Фотопериод имел продолжительность 12 ч, а средний поток фотосинтетической радиации (ФАР) с высоты подвеса светильников в один метр в среднем равнялся  $250 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ , или 14500 Лк. В качестве источника инсоляции служила 400 Вт ДНАТ-лампа, спектр облучения которой был скорректирован с помощью 100 Вт LED-фитопанели.

Вносимые в почву биодобавки в виде ГК получали из верхового торфа со степенью разложения 40–45% путем щелочной экстракции водным раствором, содержащим гидроксид калия и пирофосфат калия, в соответствии с методиками количественного анализа органического сырья [9]. В опыте использовали ГК в концентрации 250 ppm (0.025% к весу почвы), исходя из средних рекомендованных доз применения данных соединений в естественных условиях для декоративных культур [10–13].

По окончании опыта полученную зеленую биомассу растений срезали, промывали дистиллированной водой, высушивали и взвешивали. Далее побеги вместе с листьями и корнями в отдельности измельчали до состояния порошка





**Рис. 1.** Вычислительная нейронная сеть CompNN для определения индекса когнитивной значимости эмпирических аккумуляционных данных растений (вектор CSI). L1, L2, L3 – слои искусственных нейронов, выполняющих матричные преобразования числовых данных. Описание и формулы преобразований в CompNN приведены в тексте.

в агатовой ступке, отбирали навески по 0.1 г и проводили мокрое озоление с использованием концентрированной азотной кислоты (2 мл) и перекиси водорода (2 мл) в системе разложения проб Digiblock ED36S (“LabTech”, Италия) при температуре 170°С. Полученные суспензии смешивали с деионизированной водой в мерных колбах на 25 мл и оставляли отстаиваться до появления градиента взвешенных частиц. Для дальнейшего элементного анализа отбирали верхний слой супернатанта. Для всех образцов велись две параллельные пробы, а также готовились холостые растворы с использованием тех же самых реактивов. Применяемые кислоты имели квалификации о.с.ч. и для получения ультрачистых кислот предварительно были очищены в системе субперегонки кислот Milestobe subCLEAN, во избежание получения высоких значений холостых растворов. Полученные растворы анализировались методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на приборе ICPE-9000 (“Shimadzu”, Япония). Для каждого элемента строилась градуировочная кривая. В качестве эталонного раствора использовался многоэлементный раствор ICP Sigma-Aldrich Merck.

Полученные данные обрабатывали с помощью вычислительной системы R4.1.0. Для визуализации данных и выявления сходства профилей микроэлементного состава органов растений по вариантам опыта был проведен кластерный анализ и построены тепловые карты вариантов опыта и ТМ.

Для оценки эффективности аккумуляции ТМ растениями была разработана и использована оригинальная вычислительная нейронная сеть CompNN (рис. 1), которая вычисляет индекс когнитивной значимости эмпирических данных аккумуляции ТМ в побегах и корнях растений (индекс CSI, 1...10 б/п, Cognitive Salience Index). Используя индекс CSI, удалось сравнивать варианты опыта по интенсивности накопления токсикантов в органах растениями и выбрать тот вид растений, который отвечает наилучшим показателям аккумуляции ТМ при добавлении ГК.

#### Алгоритм вычислений в нейронной сети CompNN

1. Слой нейронов L1 выполняет нормализацию исходных данных матрицы **S** по формулам (1)–(3), а затем вычисляет матрицу корреляций **Cor** по формуле (4).

$$D_{jk} = \frac{1}{V_j} (S_{jk} - M_j), \tag{1}$$

$$M_j = \frac{1}{10} \sum_{k=1}^{10} S_{jk}, \tag{2}$$

$$V_j = \sqrt{\sum_{k=1}^{10} (S_{jk} - M_j)^2}, \tag{3}$$

$$Cor_{mn} =$$
  
$$= \text{CoefficientCorrelation}(D_{m1}, \dots, D_{m10}; D_{n1}, \dots, D_{n10}), \tag{4}$$

где  $S_{jk}$  – эмпирические аккумуляционные данные растений с порядковыми номерами аккумуляционных характеристик ( $j, m, n = 1, \dots, 6$ , табл. 2 и 3) и с вариантами опыта ( $k = 1, \dots, 10$ ); *CoefficientCorrelation()* – функция, вычисляющая коэффициенты корреляции по стандартному алгоритму.

2. Слой вычислительных нейронов L2 производит расчет в пространстве исходных данных матрицы *S* по собственным векторам *Comp* (по алгоритму Маркова) формулы (5)

$$Comp = \text{EigenVectors}(Cor). \tag{5}$$

3. В слое L3 вычисляется матрица *G*, содержащая проекции исходных данных на главные компоненты, где вычисляется вектор *CSI* по формуле (6)

$$CSI_k = G_{1k} \cdot b + 5, \tag{6}$$

где  $G_{1k}$  – вектор проекций исходных данных на первую главную компоненту;  $k = 1, \dots, 10$  – порядковые номера вариантов опыта;  $b = 3.64$ .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Содержание тяжелых металлов, определенное в исследуемых образцах почв, приведено в таблице 1.

Наиболее значительные превышения нормативов (ПДК/ОДК) по валовым формам, в 10n – 100n раз (где n от 1 до 9), в исследованных образцах почв отмечены по Cr, Cu и Ni (табл. 1). Однако для Cr содержание подвижных форм, потенциально доступных для растений, невысоко и практически не превышает условный фон. Для Cu и Ni отмечен наибольший процент подвижных форм по сравнению с валовыми, 94–99% и 41–89%, соответственно. Содержание обеих форм этих элементов значительно превышает условный фон (до 2000 раз). Содержание V в почвах незначительно превышает нормативные и условно фоновые значения (в 2–3.5 раза), а процент подвижных форм составляет менее 3%. По Zn отмечено незначительное превышение нормативов по подвижным формам. По Sr, для которого нормативы не установлены, отмечено незначительное превышение условно фоновых значений по подвижным формам и также их большой процент (37–97%) по сравнению с валовыми. Из всех исследованных образцов наименее загрязненной ожидаемо оказалась почва, отобранная на границе жилой зоны г. Норильск (точка 2).

Исследования показали, что применение ГК в дозе 250 ppm по-разному действовало на физиологическое состояние изучаемых видов растений. На рис. 2 видно, что внесение

Таблица 1. Элементный профиль исследуемых почв

| Проба / элемент           | Cr                                                   | Cu              | Ni              | Sr                  | V         | Zn                |
|---------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------|-----------|-------------------|
|                           | Содержание (ppm) металлов: валовая / подвижная формы |                 |                 |                     |           |                   |
| <sup>1</sup> ОДК/ПДК      | 6 / н/н                                              | 132 / 3         | 80 / 4,0        | н/н                 | 80 / н/н  | 220 / 23          |
| <sup>2</sup> Условный фон | 70–200 / 6.0                                         | 20–47 / 1,4–3.5 | 17–58 / 0,8–6.7 | 180–300 / 10.5–25.5 | 100–120/- | 45–172 / 1.1–23.0 |
| 1                         | 1800 / 15                                            | 2800 / 2757     | 3800 / 1555     | 260 / 158           | 260 / 6.3 | 160 / 67          |
| 2                         | 560 / 2.6                                            | 670 / 630       | 380 / 226       | 190 / 186           | 280 / 4.4 | 100 / 29          |
| 3                         | 2300 / 3.6                                           | 500 / 499       | 1000 / 544      | 190 / 71            | 240 / 3.6 | 110 / 40          |
| 4                         | 1900 / 1.7                                           | 1300 / 1263     | 1200 / 1066     | 180 / 84            | 250 / 3.5 | 110 / 33          |
| 5                         | 1400 / 16                                            | 3400 / 3351     | 3300 / 1752     | 220 / 153           | 210 / 5.6 | 150 / 83          |

Примечание.<sup>1</sup> – значения ПДК и ОДК приняты в соответствии с СанПиН 1.2.3685–21 “Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 “Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания””; н/н – показатель не нормируется; <sup>2</sup> – значения условного фона по валовым содержаниям металлов приняты равными диапазону кларков по миру (Виноградов, 1957; Добровольский, 2003); по подвижным формам – содержанию подвижных форм металлов в разных типах почв СНГ (Ильин, 1991).

в почву органической добавки привело к ингибированию роста надземной части. Что касается *T. erecta*, то влияние ГК на накопление биомассы этих растений не наблюдалось. Снижение биомассы побегов растений *T. patula* объясняется ингибирующим эффектом от увеличения содержания в растениях токсикантов в среднем по вариантам на 91.6%, что также показал расчет индексов CSI. Из табл. 2 видно, что применение ГК привело к достоверному увеличению индекса CSI, отражающего накопление ТМ в растениях *T. patula*. В побегах *T. erecta* под действием ГК значения индекса CSI, напротив, снижались, как и накопление ТМ в растениях, в среднем на 17.3%. Похожие изменения индекса CSI наблюдались и в корнях растений (табл. 3). Тенденция изменения в закреплении ТМ для обоих видов растений здесь составила 40.8 и 10.8% соответственно.

Наибольшая интенсивность извлечения ТМ из почвенного образца зафиксирована у растений у вида *T. patula* в варианте № 4 при добавлении ГК (CSI = 8.0; 7.6), а у *T. erecta* в том же варианте, но без внесения ГК (CSI = 8.2; 7.2).

В побегах обоих видов растений наиболее интенсивно накапливались Cu, Sr и Ni. Коэффициент корреляции с индексом CSI количества в корнях обоих растений стронция  $r = 0.95; 0.96$  (табл. 3). Коэффициент корреляции с индексом CSI количества в побегах и корнях обоих растений никеля  $r = 0.87; 0.83; 0.81; 0.67$  (табл. 2 и 3).

Относительно накопления в биомассе растений таких элементов, как Sr, V и Zn, то в основном мы обнаружили повышение их концентрации в корневой системе растений вида *T. patula* по всем пробам при добавлении в среду ГК. У вида *T. erecta* лишь в варианте № 3 опыта наблюдалось резкое увеличение доли накопления Zn с 37.1 до 142.0 мг/г (в 3.8 раза). При этом в варианте № 5 добавление ГК, напротив, снижало аккумуляцию элемента в 2.6 раза (с 107.9 до 41.8 мг/г). Что касается надземной части, то в целом прибавка накопления в биомассе обоих видов здесь была отмечена лишь по цинку. Причем в варианте № 4 у *T. erecta* органические кислоты снижали накопление элемента сразу в обоих органах (с 112.0 до 49.5 мг/г в побегах и с 79.8 до 53.6 мг/г в корнях). Относительно Sr и V наблюдалось либо снижение, либо стагнация в их аккумуляции в зеленой биомассе. Ванадий и стронций в основном накапливаются в корнях растений с очень ограниченным перемещением в побеги [14, 15]. Таким образом, из данной тройки акцент в дальнейшем изучении можно

отдать цинку, как многоплановому микроэлементу, имеющему большое биологическое значение в росте и развитии растений. Цинк считают вторым наиболее распространенным переходным металлом в живых организмах после железа [16]. Цинк важен для организации генетического материала ("цинковые пальцы" в структуре белков-гистонов, взаимодействующих с молекулами ДНК, необходим в качестве компонента активного центра ряда ферментов, обеспечивающих протекание рядовых биохимических реакций (карбоангидраза, дегидрогеназа, альдолаза, изомераза, трансфосфорилаза, карбоксипептидаза, РНК- и ДНК-полимераза), а также участвующих в защите организма от активных форм кислорода, образующихся в обычных условиях, и увеличивающих их концентраций при стрессах разного рода (Zn-супероксиддисмутаза). Ионы цинка обеспечивают стабилизацию биомембран, взаимодействуя с фосфолипидами и сульфгидрильными группами мембранных белков, посредством чего сохраняется пространственная ориентация макромолекул, важных для транспорта других биогенных ионов. Цинк также важен для синтеза белков, липидов и нуклеиновых кислот, а также метаболизма углеводов [17].

Результаты проведенного кластерного анализа по соотношению распределения ТМ в корневой системе обоих видов растений позволили выделить Ni в отдельный гомогенный ряд (рис. 3 в, г). Как правило, Ni имеет низкую подвижность и фитодоступность в почвах, а следовательно, и небольшую степень транслокации в растения [18]. Коэффициент корреляции его накопления в подземной части растения с индексом CSI в нашем опыте равнялся 0.81 для *T. patula* и 0.64 для *T. erecta*. В отношении распределения ТМ в побегах по вариантам опыт показал, что Ni здесь продемонстрировал схождение с Cu (рис. 3 а, б). Коэффициенты корреляции их накопления с индексом CSI в побегах обоих растений здесь составили  $r = 0.82; 0.87$  для Cu и  $r = 0.87; 0.83$  для Ni (табл. 2). Близость данных значений указывает на проявление определенных взаимодействий между этими элементами по типу антагонизма или синергизма. Так, на примере анализа экспрессии ряда генов у различных по толерантности к ионам Ni и Cu генотипов белой березы сделано предположение, что устойчивость растений к ТМ контролируется одними и теми же одиночными группами рецессивных генов [19]. Однако в каждом конкретном случае необходимо учитывать, при каких именно условиях проявляются данные взаимодействия, поскольку при увеличении концентрации одного

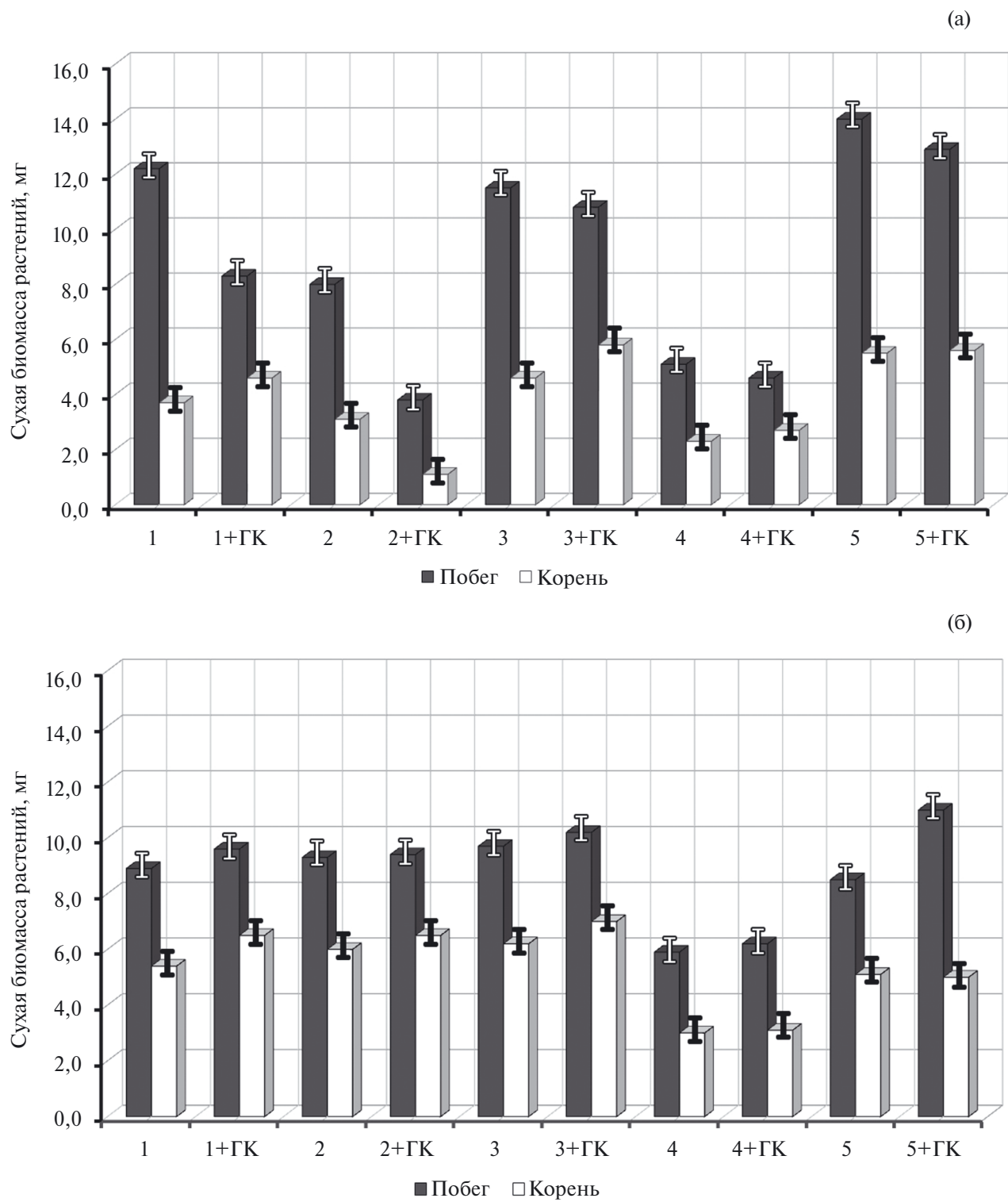


Рис. 2. Сухая биомасса надземной и подземной частей растений *T. patula* (а) и *T. erecta* (б). Вертикальные планки указывают ошибки средних.

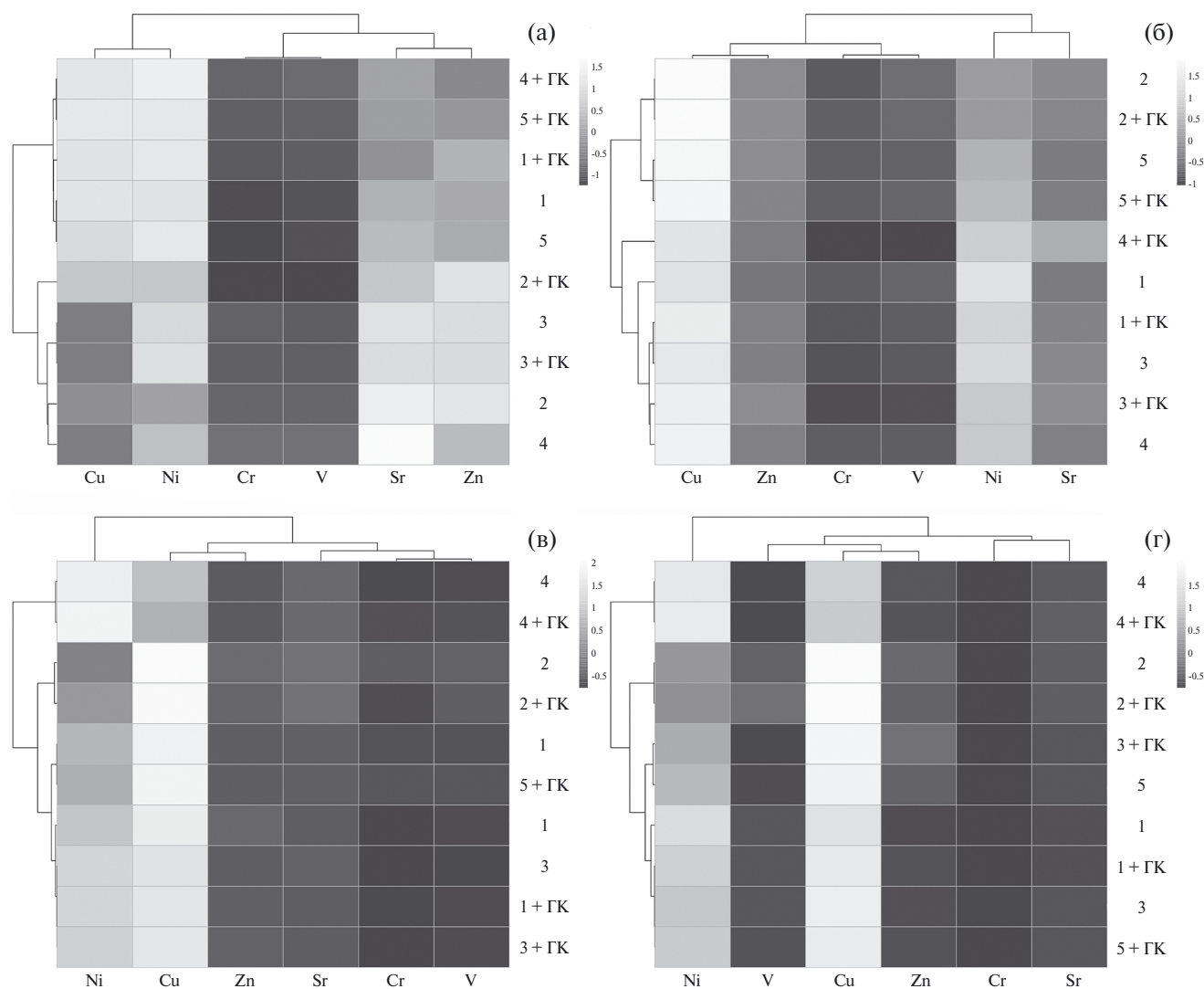
**Таблица 2.** Показатели аккумуляции металлов в побегах растений бархатцы по вариантам опыта, мг/г биомассы сухих растений

| Варианты опыта                        | Бархатцы отклоненные <i>T. patula</i> |       |       |      |      |      |                  | Бархатцы прямостоячие <i>T. erecta</i> |       |       |       |      |       |                  |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|------|------|------|------------------|----------------------------------------|-------|-------|-------|------|-------|------------------|
|                                       | 1.Cr                                  | 2.Cu  | 3.Ni  | 4.Sr | 5.V  | 6.Zn | Индекс CSI, ±0.1 | 1.Cr                                   | 2.Cu  | 3.Ni  | 4.Sr  | 5.V  | 6.Zn  | Индекс CSI, ±0.1 |
| 1                                     | 0.9                                   | 41.0  | 40.0  | 24.5 | 2.0  | 22.0 | 4.4              | 3.6                                    | 240.8 | 240.2 | 40.6  | 12.8 | 33.0  | 4.8              |
| 1 + ГК                                | 1.3                                   | 74.7  | 80.3  | 26.5 | 3.2  | 45.8 | 5.8              | 1.2                                    | 202.0 | 152.2 | 43.5  | 6.8  | 42.0  | 4.3              |
| 2                                     | 1.9                                   | 7.1   | 10.3  | 24.6 | 1.9  | 22.6 | 4.5              | 3.5                                    | 233.6 | 77.5  | 53.2  | 20.5 | 55.9  | 4.8              |
| 2 + ГК                                | 1.9                                   | 28.0  | 28.1  | 28.0 | 1.9  | 35.7 | 5.2              | 2.2                                    | 273.7 | 83.4  | 48.2  | 15.1 | 61.7  | 4.7              |
| 3                                     | 1.9                                   | 4.9   | 19.7  | 21.9 | 1.5  | 20.6 | 4.2              | 3.3                                    | 164.1 | 137.9 | 46.5  | 7.8  | 35.5  | 4.2              |
| 3 + ГК                                | 1.9                                   | 5.5   | 22.7  | 21.8 | 1.9  | 21.4 | 4.3              | 2.3                                    | 149.4 | 101.3 | 45.5  | 3.8  | 44.2  | 4.0              |
| 4                                     | 1.9                                   | 4.9   | 25.3  | 50.4 | 1.9  | 23.9 | 5.2              | 17.1                                   | 571.2 | 371.6 | 107.9 | 15.2 | 112.0 | 8.2              |
| 4 +ГК                                 | 3.2                                   | 127.0 | 141.0 | 55.4 | 6.1  | 29.3 | 8.0              | 3.7                                    | 191.3 | 153.8 | 114.4 | 5.0  | 49.5  | 5.4              |
| 5                                     | 0.3                                   | 28.8  | 33.1  | 21.5 | 1.3  | 17.8 | 3.8              | 1.6                                    | 343.9 | 161.4 | 40.4  | 6.2  | 74.6  | 5.0              |
| 5 + ГК                                | 1.2                                   | 58.4  | 58.2  | 22.9 | 1.9  | 20.1 | 4.6              | 0.7                                    | 324   | 170.5 | 39.5  | 7.5  | 54.4  | 4.5              |
| Коэффициент корреляции с индексом CSI | 0.74                                  | 0.82  | 0.87  | 0.80 | 0.96 | 0.55 | —                | 0.94                                   | 0.87  | 0.83  | 0.75  | —    | 0.87  | —                |

**Таблица 3.** Показатели аккумуляции металлов в корнях растений бархатцы по вариантам опыта, мг/г биомассы сухих растений

| Варианты опыта                  | Бархатцы отклоненные <i>T. patula</i> |       |       |      |      |      |                  | Бархатцы прямостоячие <i>T. erecta</i> |        |        |      |      |       |                  |
|---------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|------|------|------|------------------|----------------------------------------|--------|--------|------|------|-------|------------------|
|                                 | 1.Cr                                  | 2.Cu  | 3.Ni  | 4.Sr | 5.V  | 6.Zn | Индекс CSI, ±0.1 | 1.Cr                                   | 2.Cu   | 3.Ni   | 4.Sr | 5.V  | 6.Zn  | Индекс CSI, ±0.1 |
| 1                               | 3.1                                   | 318.0 | 215.0 | 28.5 | 9.1  | 41.7 | 3.8              | 17.7                                   | 1083.0 | 1009.5 | 54.7 | 87.2 | 49.9  | 5.1              |
| 1 + ГК                          | 7.4                                   | 457.0 | 377.0 | 41.9 | 14.8 | 52.0 | 5.4              | 11.3                                   | 800.6  | 612,3  | 48.0 | 66.9 | 48.6  | 4.2              |
| 2                               | 3.0                                   | 414.0 | 68.3  | 34.5 | 12.8 | 23.6 | 3.8              | 8.6                                    | 526.7  | 179,3  | 44.3 | 58.3 | 68.3  | 3.9              |
| 2 + ГК                          | 6.0                                   | 335.0 | 116.0 | 45.8 | 20.7 | 33.6 | 5.2              | 12.2                                   | 610.8  | 186,7  | 51.3 | 94.2 | 65.5  | 3.8              |
| 3                               | 5.5                                   | 197.5 | 170.5 | 29.3 | 9.7  | 24.4 | 3.7              | 17.4                                   | 746.2  | 515,9  | 55.1 | 51.5 | 37.1  | 4.8              |
| 3 + ГК                          | 9.0                                   | 304.0 | 244.0 | 35.4 | 16.2 | 42.4 | 4.9              | 11.6                                   | 878.4  | 427,7  | 57.3 | 23.0 | 142.0 | 4.4              |
| 4                               | 9.6                                   | 240.0 | 365.0 | 53.8 | 15.8 | 30.8 | 5.8              | 29.0                                   | 627.1  | 787,6  | 84.9 | 35.9 | 79.8  | 7.2              |
| 4 +ГК                           | 16.8                                  | 279.0 | 535.0 | 61.7 | 25.5 | 36.6 | 7.6              | 26.1                                   | 517.5  | 712,7  | 92.4 | 32.0 | 53.6  | 7.2              |
| 5                               | 6.4                                   | 566.0 | 305.0 | 32.3 | 10.2 | 27.5 | 4.2              | 9.9                                    | 978.0  | 571,3  | 63.7 | 32.0 | 107.9 | 4.9              |
| 5 + ГК                          | 9.6                                   | 994.0 | 478.0 | 47.0 | 16.1 | 35.6 | 5.8              | 7.5                                    | 661.7  | 476,3  | 49.6 | 40.4 | 41.8  | 4.6              |
| Коэф. корреляции с индексом CSI | 0.94                                  | —     | 0.81  | 0.95 | 0.89 | —    | —                | 0.91                                   | —      | 0,64   | 0.96 | —    | —     | —                |





**Рис. 3.** Тепловая карта кластерного распределения ТМ в побегах (а) и корнях (в) растений *Tagetes patula* и в побегах (б) и корнях (г) *Tagetes erecta* по вариантам опыта. Темный цвет указывает на более высокую, а светлый – на более низкую концентрацию каждого элемента.

элемента явления синергизма могут перейти в антагонистические, а при снижении – напротив, еще усилиться.

По итогу проведенной работы можно сделать вывод, что оба вида растения из рода бархатцы подходят для использования в технологии фитоэкстракции ТМ из загрязненных территорий и выращивания на техногенных почвах вблизи города Норильск. Однако на основании когнитивного анализа, заложенного в рекуррентную нейронную сеть, акцент в выборе следует сделать в пользу *T. patula*. Данный вид имеет меньший срок вегетации, что особенно актуально для данного региона, и, как показал эксперимент, растения показали лучшую отзывчивость на применение ГК, уже в минимально рекомендованной дозе. В дальнейших

исследованиях выбранную дозу ГК можно постепенно повышать, с целью поиска необходимой концентрации, обладающей сразу двойственным эффектом, способностью увеличивать транслокацию ТМ из почвы в растения (фитоэкстракцию) и сглаживать повышенную кислотность среды, также свойственную для данного региона, по типу известкования.

Известно, что никель как токсикант, наравне с Cu, является приоритетным загрязняющим элементом для почв данного региона [20]. Многие исследователи рассматривают его в качестве одного из главных поллютантов во всем мире из-за его активного использования человеком. В почвенном растворе Ni наиболее распространен в форме гидрата  $\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_{26}^+$ . Геохимически он связан

с соединениями железа и кобальта. В большинстве случаев он присутствует в центрах ионного обмена и адсорбируется алюминием и железом. Поглощение металла растениями зависит не столько от его содержания в почве, сколько от количества обменной формы никеля. В щелочных почвах происходит адсорбция и поглощение ионов этого металла органическими веществами, в результате чего никель становится недоступным для растений. Более высокая биодоступность металла для растений наблюдается в почвах, содержащих малое количество гумуса, характеризующихся избыточным увлажнением и низким рН почвенного раствора, а также легким гранулометрическим составом. В кислых почвах Ni более подвижен за счет образования комплексов со специфическими органическими лигандами, которыми также могут выступать гуминовые кислоты.

Для лучшего изучения механизмов антагонизма и синергизма, выявленных у Ni и Cu в данной полиметаллической смеси, следует провести отдельный модельный опыт на искусственной нейтральной среде, где в отсутствие влияния почвенного матрикса, выделить доминирующую негативную роль того или иного элемента взятых в усредненных по изученным почвенным пробам концентрациях. Наряду с двумя данными токсикантами, можно выделить и Zn, который доминирует в составе геохимических ассоциаций как загрязнитель почвенного покрова. Отмечено, что гибель большинства чувствительных видов наземных растений может наблюдаться при концентрациях Zn в почве более, чем 100 мг/кг. При этом следует отметить, что в целом избыток металла в почвах менее распространен, чем его дефицит.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (темы FGUS 2024-0010 и FGUS 2022-0018).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа не содержит исследований с использованием людей или животных в качестве объектов исследования.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гальченко С.В., Мажайский Ю.А., Гусева Т.М., Чердакова А.С. Фиторемедиация городских почв, загрязненных тяжелыми металлами, декоративными цветочными культурами // Вестник Рязанского государственного университета им. С.А. Есенина. 2015. № 4 (49). С. 144–153.
2. Мажайский Ю.А., Гальченко С.В., Гусева Т.М., Чердакова А.С. Накопление тяжелых металлов декоративными цветочными культурами // Успехи современной науки и образования. 2016. № 9. С. 203–205.
3. Liu J., Xin X., Zhou Q. Phytoremediation of contaminated soils using ornamental plants // Environmental Reviews. 2018. V. 26. No. 1. P. 43–54.
4. Vasilyeva M., Kovshov S., Zambrano J., Zhemchuzhnikov M. Effect of magnetic fields and fertilizers on grass and onion growth on technogenic soils // Journal of Water and Land Development. 2021. V. 49. P. 55–62.
5. Pandey J., Verma R.K., Singh S. Suitability of aromatic plants for phytoremediation of heavy metal contaminated areas: a review // Int. Phytoremediation. 2019. P. 1–14.
6. Ghosh M., Singh S.P. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts // Applied Ecology and Environmental Research. 2005. V. 3 (1). P. 1–18.
7. Sarapulova G.I. Geochemical approach in assessing the technogenic impact on soils // Journal of Mining Institute. 2020. V. 243. P. 388–395.
8. Ягдарова О.А. Особенности накопления свинца одностолетними декоративными растениями в процессе онтогенеза в условиях города Йошкар-Олы // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 2. С. 419.
9. Пансю М., Гомеру Ж. Анализ почвы. Справочник. Минералогические, органические и неорганические методы анализа. СПб.: Профессия, 2014. 800 с.
10. Najarian A., Souri M.K., Nabigol A. Influence of humic substance on vegetative growth, flowering and leaf mineral elements of Pelargonium x hortorum // J. Plant Nutr. 2022. V. 45 No. 1. P. 107–112.
11. Babar A., Jawad A., Sayyed W.A.B., Muhammad I., Waqas K., Muhammad B.A.S. Effect Nitrogen and Humic Acid Levels on Plant Height and Number of Florets per Spike of Gladiolus Cultivars // Int J Environ Sci Nat Res. 2017. V. 7. No. 1. 555701.
12. Mohammadipour E., Golchin A., Mohammadi J., Negahdar N., Zarchini M. Effect of humic acid on yield and quality of marigold (*Calendula officinalis* L.) // Annals of Biological Research. 2012. V. 3. No. 11. P. 5095–5098.
13. Ahmad S., Khan J., Jamal A. Response of pot marigold to different applied levels of humic acid // Journal of Horticulture and Plant Research. 2019. V. 5. P. 57–60.
14. Chen L., Liu J.R., Hu W.F., Gao J., Yang J.Y. Vanadium in soil-plant system: Source, fate, toxicity, and bioremediation // J Hazard Mater. 2021. V. 405. P. 124–200.
15. Burger A., Lichtscheidl I. Strontium in the environment: Review about reactions of plants towards stable and radioactive strontium isotopes // Sci Total Environ. 2019. V. 653. P. 1458–1512.

16. Balafrej H., Bogusz D., Triqui Z.A., Guedira A., Bendaou N., Smouni A., Fahr M. Zinc Hyperaccumulation in Plants: A Review // *Plants*. 2020. 9(5). P. 562–584.
17. Иванищев В.В. Цинк в природе и его значение для растений // *Известия Тульского государственного университета. Науки о земле*. 2022. № 2. С. 35–49.
18. Иванищев В.В. Никель в окружающей среде и его влияние на растения // *Известия Тульского государственного университета. Науки о земле*. 2021. № (2). С. 38–53.
19. Theriault G., Nkongolo K. Nickel and Copper Toxicity and Plant Response Mechanisms in White Birch (*Betula papyrifera*) // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2016. V. 97. No. 2. P. 171–176.
20. Пономарева Т.В., Трефилова О.В., Богородская А.В., Шапченко О.А. Эколого-функциональная оценка состояния почв в зоне аэротехногенного воздействия Норильского промышленного комплекса // *Сибирский экологический журнал*. 2014. Т. 21. № 6. С. 987–996.

## NEURAL NETWORK COGNITIVE ANALYSIS OF ACCUMULATION METALS BY MARIGOLD

J. V. Puhalsky<sup>1,2</sup>, N. I. Vorobyov<sup>3</sup>, S. I. Loskutov<sup>1,2</sup>,  
M. A. Chukaeva<sup>4</sup>, V. R. Sidorova<sup>4</sup>, V. A. Matveeva<sup>4</sup>

*Received October 23, 2023*

*After revision December 22, 2023*

*Accepted December 25, 2023*

<sup>1</sup>*A.S. Pushkin Leningrad State University, St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation*

<sup>2</sup>*All-Russian Research Institute of food flavorings – a branch of Gorbатов Research Center for Food Systems, St. Petersburg, Russian Federation*

<sup>3</sup>*All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation*

<sup>4</sup>*St. Petersburg Mining University, St. Petersburg, Russian Federation*

The article presents the results of studies to assess the effect of humic acids, taken at a concentration of 250 ppm, on the process of induced phytoextraction of heavy metals from soils selected near Norilsk. Phytoextraction was carried out by different types of marigold plants: *Tagetes patula* and *Tagetes erecta*. The studies were carried out in greenhouse conditions under controlled spectral illumination (light culture). The duration of the experiment was 21 days. A short vegetation period was chosen based on the conditions of a short summer period typical for this region, where it is more rational to keep records of the systemic removal of toxicants from contaminated soils by several cycles of their sowing/cutting per season, already at the juvenile phase of ontogenesis. For elemental analysis, the method of atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma was used. To assess the level of efficiency of metal accumulation, the authors developed and used the original computing neural network CompNN, which allows calculating the cognitive significance index (CSI) based on empirical data on the accumulation of toxicants, both in shoots and roots of plants. The results of the study showed that the introduction of an organic additive in the form of humic acids into the soil led to inhibition of the growth of the above-ground part of *T. patula*. As for *T. erecta*, the rate of accumulation of green plant biomass did not change when humic acids were added. The decrease in the biomass of shoots of *T. patula* plants is explained by an increase in the accumulation of metals in them by an average of 91.6% for the variants. The content of metals in the shoots of *T. erecta* under the influence of humic acids, on the contrary, decreased by 17.3% on average. A similar result was observed in relation to the root zone: the trend of change in the fixation of metals for both plant species here was 40.8 and 10.8%, respectively. Calculation of CSI indices also showed that the addition of humic acids in *T. patula* increases the intensity of metal accumulation from the soil in its biomass in all variants, while in *T. erecta*, on the contrary, it decreases. The performed cluster analysis demonstrated the fixation of metals in the main buffer zone of plants, and also made it possible to isolate nickel into a separate homogeneous series. With regard to the distribution of this element in the shoots by variants, experience has shown that it has demonstrated here the proximity of convergence with copper. The correlation coefficients of their accumulation with the CSI index in the shoots of both plants were  $r = 0.82$ ;  $0.87$  for Cu and  $r = 0.87$ ;  $0.83$  for Ni. The proximity of these values indicates the priority nature of the accumulation of these metals in the plant biomass of marigolds, and also characterizes the manifestation of certain interactions between them in contaminated soil by the type of antagonism or synergism.

**Keywords:** *Tagetes*, heavy metals, phytoremediation, recurrent neural network, cognitive significance index