

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Даурова Д.Л. по теме «Оценка потенциала сладкого картофеля (*Ipomoea batatas* L.) для фиторемедиации загрязненных свинцом территорий южного Казахстана», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D05204 – Экология

Актуальность темы исследования

В настоящее время в связи с интенсивными темпами промышленного производства растет содержание антропогенных загрязнений в окружающую среду. Весьма опасными загрязнителями являются тяжелые металлы: мышьяк (As), кадмий (Cd), ртуть (Hg), селен (Se), свинец (Pb), цинк (Zn), никель (Ni), молибден (Mo), медь (Cu), сурьма (Sb) и др. Известно, что чрезмерное содержание тяжелых металлов может приводить к серьезным экологическим последствиям. Тяжелые металлы стали основной проблемой загрязнения в промышленных регионах Казахстана и не могут быть разрушены в результате деградации. В нашей Республике выброс мощных техногенных загрязнений исходит в Южно-Казахстанской области. Города Шымкент и Кентау входят в зону повышенного загрязнения почв тяжелыми металлами. Как известно, главную обеспокоенность в городе Шымкент, вызывает бывший Шымкентский свинцовый завод, который активно производил свинец и цинк в советское время.

Научная новизна заключается в выявлении устойчивых сортов сладкого картофеля (*Ipomoea batatas* L.) к свинцу способных к ремедиации загрязненных почв, а также в определении спектра экспрессии генов у устойчивых и чувствительных сортов сладкого картофеля в ответ на повышенную концентрацию свинца. Сладкий картофель имеет хорошо развитую биомассу верхней части растения, которая состоит из длинных до 5 метров лиан и хорошо развитую корневую систему, что делает данную культуру хорошим кандидатом для ремедиации тяжелых металлов из загрязнённых почв. Ранее проведенные работы по разработке биотехнологии получения безвирусного посадочного материала сладкого картофеля, показали, что данная культура хорошо произрастает в наших климатических условиях. Ранее очистка загрязнённых территорий тяжелыми металлами сладким картофелем не проводилась. Воздействие тяжелыми металлами активирует большое количество генов и белков, связывая сигнальные пути, которые обеспечивают устойчивость к различным тяжелым металлам. Как известно сладкий картофель богат антиоксидантами, такими как бета-каротин и антоциан. Существует много сведений об антиоксидантных системах клеток и их активации при стрессе. Как правило, под воздействием неблагоприятных условий в клетках живых

организмов развиваются процессы окислительного стресса, вызванные генерацией активных форм кислорода (АФК). Эти системы включают в себя как низкомолекулярные небелковые антиоксиданты (каротиноиды, пролин, аскорбат, глутатион, флавоноиды и др.), так и специфические ферменты-антиоксиданты (СОД, КАТ, пероксидазы и др.) и SH-белки. Исследование особенностей функционирования антиоксидантных систем важно для понимания того, как растения адаптируются к антропогенно измененным условиям среды.

Цель исследований: Отбор, испытание и изучение сортов сладкого картофеля устойчивых к повышенной концентрации свинца в почве, а также способных аккумулировать свинец в тканях для фиторемедиации загрязненных территорий южного Казахстана.

Для достижения данной цели поставлены следующие задачи исследований:

1. Определение уровня загрязнения почвы свинцом и другими тяжелыми металлами Шымкентским свинцовым заводом.
2. Провести экспериментальное выращивание сладкого картофеля на загрязнённой свинцом территории южного Казахстана.
3. Оптимизация твердой питательной среды для культивирования сладкого картофеля.
4. Оптимизация питательной среды для клонирования и пересадки растений сладкого картофеля *in vitro*.
5. Определение предельно допустимых концентраций тяжелых металлов в питательной среде.
6. Скрининг *in vitro* (не менее 50 сортов) и отбор (не менее 2 сортов) сладкого картофеля на устойчивость к свинцу.
7. Тест на рост и развитие сладкого картофеля в контролируемых условиях в почве заражённой свинцом.
8. Биохимический анализ сладкого картофеля на активность ферментов.

Описание основных результатов исследования

В результате определения уровня загрязнения почвы свинцом и другими тяжелыми металлами Шымкентским свинцовым заводом были выявлены высокие концентрации свинца (Pb), цинка (Zn) и кадмия (Cd). Анализ почвы отобранных из трех участков местных жителей, выявил превышения предельно допустимых концентраций (ПДК).

В результате скрининга *in vitro* растений сладкого картофеля на различных концентрациях тяжелых металлов были взяты для работы 32 сорта сладкого картофеля из 57. Затем для отбора из 32 сортов устойчивых и чувствительных растений была проведена фенотипическая оценка на повреждение листьев по шкале от 0 до 10. Таким образом, были отобраны два устойчивых сорта КО-12 и КО-16 и два чувствительных сорта КО-7 и КО-5 к свинцу.

Подтверждена высокая устойчивость сорта сладкого картофеля КО-12 по сравнению с рапсом и подсолнечником при воздействии высоких концентраций тяжелых металлов. Фенотипическая оценка, а также физиологический и биохимический анализ подтвердили устойчивость сортов КО-12 и КО-16 к тяжелым металлам, в то время как сорта КО-7 и КО-5 были чувствительными.

Была определена разница в спектре экспрессии генов у устойчивых и чувствительных сортов сладкого картофеля методом сравнительного транскриптомного анализа. Для понимания механизма устойчивости к свинцу, цинку и кадмию на молекулярном уровне мы исследовали экспрессию 4 генов: Metallothionein (IbMT1), ATPase 3 (HMA3) homolog gene, PODs (swpb3 и swpa4). Из полученных результатов было выявлено, что обработка свинцом, цинком и кадмием показала различные изменения экспрессии генов между устойчивым и чувствительным сортом.

Проведены экспериментальные выращивания сладкого картофеля на загрязненных участках тяжелыми металлами. По результатам анализа атомно-абсорбционной спектроскопии было показано, что сладкий картофель адсорбирует высокие концентрации свинца и цинка. Коэффициентом биоконцентрации и транслокации было выявлено, что способность батата накапливать металлы распределилась следующим образом: Pb>Zn>Cd. Показатель для свинца и цинка составил >1, из чего можно сделать вывод о большом потенциале батата как фиторемедианта.

Была проведена переработка сладкого картофеля на крахмал и проведен анализ на содержания тяжелых металлов. По результатам анализа атомно-абсорбционной спектроскопии было выявлено низкое содержание тяжелых металлов в крахмале не превышающие ПДК.

Исходя из полученных результатов можно уверенно предположить, что сладкий картофель обладает хорошей адсорбцией тяжелых металлов корнями и листьями, а также к способности ремедиации свинца.

Научная новизна. Впервые в Казахстане исследована способность сладкого картофеля (*Ipomoea batatas* L.) к ремедиации загрязненных почв, а также определен спектр экспрессии генов у устойчивых и чувствительных сортов сладкого картофеля в ответ на повышенную концентрацию свинца.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты исследований со сладким картофелем, позволят в будущем решать многие биотехнологические вопросы, в том числе восстановления окружающей среды методами фиторемедиации, увеличения продуктивности путем создания сортов с повышенными антиоксидантными свойствами, что позволит существенно увеличить их стрессоустойчивость и сократить потери урожая при неблагоприятных экологических условиях.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Определен уровень загрязнения почвы свинцом и другими тяжелыми металлами Шымкентским свинцовым заводом.

2. Проведено экспериментальное выращивание сладкого картофеля на загрязнённой свинцом территории южного Казахстана. Отработана методика получения безвирусного материала сладкого картофеля.

3. Оптимизирована твердая питательная среда для культивирования сладкого картофеля.

4. Оптимизирована питательная среда для клонирования и пересадки растений сладкого картофеля *in vitro*.

5. Определены предельно допустимые концентрации тяжелых металлов в питательной среде.

6. Проведен скрининг *in vitro* (не менее 50 сортов) и отбор (не менее 2 сортов) сладкого картофеля на устойчивость к свинцу.

7. Проведен тест на рост и развитие сладкого картофеля в контролируемых условиях в почве заражённой свинцом.

8. Проведен биохимический анализ сладкого картофеля на активность ферментов.

Степень достоверности и апробация результатов исследований.

Основные исследования выполнялись в соответствии с тематическими планами НИР, результаты которых ежегодно доложены и представлены на заседаниях Ученого совета РГП на ПХВ «Институт Биологии и Биотехнологии Растений» КН МНВО РК (ИББР), в материалах международной научно-практической конференции «Экологическая генетика и здоровье населения: достижения и перспективы», посвященной 80-летию доктора биологических наук, профессора, академика Национальной Академии Наук Высшей Школы РК и МАИН Бигалиева Айтхажи Бигалиевича (Алматы, 18 января 2023 г.), Международном научном форуме "Омаровские чтения: Биология и Биотехнология XXI века" (Алматы, 14 апреля 2023 г.), Международной конференции «International Conference on Plant Biology and Biotechnology (ICPBV 2024)» (Алматы, 3-6 июня 2024 г.). Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечиваются четкостью методологических позиций, применяемых в экспериментальной работе, соответствующих объекту, предмету, целям и задачам диссертации.

Результаты данной диссертации позволят повысить уровень научно-исследовательских работ в области создания растений-аккумуляторов тяжелых металлов. Значительно увеличатся знания в области экологии, биотехнологии растений и молекулярной биологии за счет приобретения новых теоретических и практических знаний. Кроме того, результаты исследования заложат основу для фиторемедиации локально загрязненных тяжелыми металлами территорий Казахстана, что окажет положительное влияние на улучшение экологической обстановки и здоровье населения.

Связь с другими научно-исследовательскими работами. Данная диссертационная работа выполнена в рамках проекта ГФ АР09259945

«Потенциал сладкого картофеля (*Ipomoea batatas* L.) для фиторемедиации загрязненных свинцом территорий южного Казахстана», 2021-2023 гг.

Публикации результатов диссертации. Основные результаты диссертации опубликованы в 11 научных статьях в журналах и материалах конференций, в т.ч. 5 статей в журнале входящих базу данных Scopus с процентилем 59%(Q2), 69%(Q2), 79%(Q1), 86%(Q1) и 87%(Q1), 2 научные статьи в журналах, рекомендованные Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования МНиВО РК, 4 публикации в материалах международной научной конференции.

Личный вклад автора. Автором лично сформулированы цель и задачи исследований, проведены полевые исследования и лабораторные анализы по отбору устойчивых и чувствительных сортов сладкого картофеля к свинцу, определена разница в спектре экспрессии генов у устойчивых и чувствительных сортов сладкого картофеля методом сравнительного транскриптомного анализа, проведена обработка полученных данных и их интерпретация, выполнена статистическая обработка результатов.

Структура диссертации. Общий объем диссертации составляет 115 страниц. Список использованной литературы включает 361 наименование, диссертационная работа содержит 29 рисунков, 12 таблицы.