

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ ПРОРОСТКОВ РЕДИСА

Елизарьева Е.Н.¹, Янбаев Ю.А.¹, Редькина Н.Н.¹, Кудашкина Н.В.², Байков А.Г.³, Смирнова А.П.⁴

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа, e-mail: elizareva_en@mail.ru;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, e-mail: phytoart@mail.ru;

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», Уфа, e-mail: baykov_aydar@mail.ru;

⁴ФГБОУ ВО «Уфимский государственный авиационный технический университет», Уфа, e-mail: tpsmirnova@mail.ru

Изучены особенности прорастания корешков редиса (*Raphanus sativus*) в присутствии кобальта, меди и марганца в растворе. Редис проращивали в растворах, содержащих от 5 до 1000 мг ионов металла/л. Установлено, что прорастание семян редиса оказалось достаточно устойчиво к действию тяжелых металлов. Наиболее выраженное угнетение прорастания корешков редиса наблюдалось в растворе солей меди, в меньшей степени этот эффект был выражен при проращивании в растворах солей марганца и кобальта. Эксперимент по проращиванию семян в бинарных растворах марганца в сочетании с другими тяжелыми металлами (железом, кобальтом, цинком, медью, никелем и кадмием) показал наличие антагонистического взаимодействия между ионами марганца и кобальта. Медь и марганец подобного взаимного влияния не обнаружили. Проведённые эксперименты по определению диапазонов ТМ, при которых они оказывают стимулирующее, нейтральное и угнетающее действие на процесс формирования проростков растений, свидетельствуют о возможности использования метода биотестирования для определения пригодности конкретных растений для фиторемедиации почв в зависимости от уровня их загрязненности тяжелыми металлами.

Ключевые слова: тяжелые металлы; редис; проращивание.

INFLUENCE OF SOME HEAVY METALS COMPOUNDS ON THE PROCESS OF RADISH SPROUTS FORMATION

Elizareva E.N.¹, Yanbaev Y.A.¹, Redkina N.N.¹, Kudashkina N.V.², Baykov A.G.³, Smirnova A. P.⁴

¹Bashkir state university, Ufa, e-mail: elizareva_en@mail.ru;

²Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: phytoart@mail.ru;

³Bashkir State Agrarian University, Ufa, e-mail: baykov_aydar@mail.ru;

⁴Ufa State Aviation Technical University, Ufa, e-mail: tpsmirnova@mail.ru

The peculiarities of germination of root radish (*Raphanus sativus*) in the presence of cobalt, copper and manganese in solution were studied. Radish was grown in solutions containing 5 to 1000 mg of metal ions / l. It was revealed that the germination of radish seeds proved to be quite resistant to the action of heavy metals. The most pronounced inhibition of germination of roots of radish was observed in a solution of copper salts, to a lesser extent this effect was expressed by germination of manganese and cobalt salts in solutions. The seed germination experiment in binary manganese solutions in combination with other heavy metals (iron, cobalt, zinc, copper, nickel and cadmium) showed the presence of antagonistic interaction between manganese and cobalt ions. Copper and manganese didn't have similar mutual influence. The conducted experiments on the determination of the HM ranges at which they have a stimulating and inhibitory effect on the process of formation of plant sprouts testify to the possibility of using the method of biotesting to determine the suitability of specific plants for phytoremediation of soils, depending on the level of their contamination with heavy metals.

Keywords: heavy metals; radish; germination.

Проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) становится все более и более актуальной. Многие из этих металлов обладают высоким сродством к серосодержащим лигандам и образуют с ними прочные соединения. Поэтому, попадая в клетки, они взаимодействуют с SH-группами, инактивируя многие ферменты [1]. Это

вызывает разнообразные нарушения метаболизма клеток, с чем связана высокая токсичность тяжелых металлов.

В период прорастания семян закладываются зачатки генеративных и вегетативных органов, поэтому изменение физиологических процессов этого этапа, вызванное стрессором, отразится на протекании всех последующих этапов онтогенеза, на росте и продуктивности растений [2].

Целью данной работы является определение диапазонов концентраций ионов тяжелых металлов, при которых они оказывают стимулирующее и ингибирующее действие на процесс формирования проростков растений семейства *Brassicaceae*. В работе в качестве тест-культуры использовались семена редиса Федерального государственного унитарного предприятия «Башсортсемош». Данная культура рекомендована для применения в целях биотестирования [3]. Кроме того, данный выбор обусловлен биопродуктивными свойствами редиса и его холодостойкостью. Семена редиса прорастают уже при температуре 3-4 °С. Наиболее благоприятная температура для роста редиса 12-15 °С с момента посева и до начала формирования корнеплода, а затем 15-18 °С. Редис обладает чрезвычайно коротким периодом вегетации и не предъявляет особых требований к почве и климату. Основные характеристики семян приведены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика семян, использованных для биотестирования

Общепринятое/научное названия		Семейство	Сорт	Сортовая чистота, %	Всхожесть, %	Влажность, %
Редис	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Brassicaceae</i>	Жара	99,4	94,0	9,0

По 50 штук семян редиса укладывались равномерно на фильтровальную бумагу в чашке Петри диаметром 10 см. В одну чашку Петри наливалось 5 мл раствора ТМ, в другую – 5 мл дистиллированной воды. Уровень жидкости в чашках должен быть ниже поверхности семян. Проращивание проводилось в условиях контролируемой температуры и влажности воздуха. Эксперимент заканчивается через 72 часа измерением длины корешков.

Для эксперимента были взяты соли меди, марганца и кобальта в разных концентрациях. Выбор конкретных тяжелых металлов обусловлен их биологической ролью и токсичностью [4].

Медь относится к группе ультрамикроэлементов, входящих в элементарный химический состав клетки, она участвует во многих физиологических процессах. Среднее содержание меди в живом веществе $2 \cdot 10^{-4}\%$, известны организмы - концентраторы меди. По биохимическим свойствам и функциям медь сходна с железом, способна образовывать

стабильные комплексы и изменять валентность ($\text{Cu}^{2+} \leftrightarrow \text{Cu}^+$). В растениях до 98-99% меди содержится в виде комплексных форм. Медь характеризуется большим сродством к аминокислотам, чем к органическим кислотам. Основная биохимическая функция меди - участие в ферментативных реакциях в качестве активатора или в составе медьсодержащих ферментов. Важнейшими Cu-ферментами являются пластоцианин, цитохромоксидаза, полифенолоксидаза, супероксиддисмутаза, диаминооксидаза [5].

Количество меди в растениях колеблется от 0,0001 до 0,05% (на сухое вещество) и зависит от вида растения и содержания меди в почве. Так, например, содержание меди во мхах и лишайниках составляет в среднем 5-9 мг/кг сухого вещества. В оптимальных концентрациях медь повышает холодостойкость растений, способствует их росту и развитию.

Недостаточное содержание меди в почвах отрицательно влияет на синтез белков, жиров и витаминов и способствует бесплодию растительных организмов. Медь участвует в процессе фотосинтеза и влияет на усвоение азота растениями. Вместе с тем избыточные концентрации меди оказывают неблагоприятное воздействие на растительные и животные организмы. Для большинства видов критический уровень меди составляет 20-30 мг/кг сухой массы растений. Нарушается интеграция мембран, что приводит к утечке содержимого клеток, особенно у чувствительных видов и экотипов растений. В присутствии кальция (иона-антагониста) повреждающее действие меди уменьшается. Предельно допустимая концентрация для почвы (с учетом фона) равна 55 мг/кг [6]. Реакцией проростков семян редиса на внешние факторы окружающей среды являются: изменения морфологических признаков, снижение всхожести, физиологические сдвиги и т.д.

Кобальт в тканях растений находится в ионной (Co^{2+} , Co^{3+}) и комплексной формах [7]. В оптимальных концентрациях этот микроэлемент способствует увеличению толщины и объема мезофилла в листьях. Кобальт влияет на формирование и функционирование фотосинтетического аппарата растений. Этот микроэлемент способствует концентрированию хлоропластов и пигментов в листьях, что связано с возрастанием объема пластидного аппарата за счет репликации и роста органелл [8].

Кобальт может активировать биосинтез хлорофилла, стимулируя синтез белка цитоплазмы и хлоропластов. Под влиянием кобальта фотохимическая активность хлоропластов возрастает параллельно увеличению содержания в них белка. Связь кобальта с синтезом белка может осуществляться через регуляцию структуры и устойчивости рибосом, а также функционирования РНК.

Критический уровень кобальта у большинства растений колеблется от 0,4 до нескольких миллиграммов на 1 кг сухой массы [9]. Однако повышенные концентрации

соединений кобальта являются токсичными. В избыточных концентрациях кобальт тормозит поглощение железа и марганца. ПДК_{с.с.} = 0,0004 мг/м³, класс опасности 2.

Марганец содержится в тканях всех растений, хотя количественные характеристики у разных систематических групп сильно различаются. Максимальное количество марганца содержится в цитоплазме растительных клеток, из органелл – в хлоропластах.

Основные функции марганца в растительных клетках: 1) катализирующая, 2) участие в окислительно-восстановительных реакциях и фотосинтезе.

Известно более 35 ферментов, активируемых марганцем. Большинство из них катализируют реакции окисления-восстановления, декарбоксилирования, гидролиза. В настоящее время особенно выделяют два марганцесодержащих фермента: Mn-белок и супероксиддисмутаза (MnСОД). MnСОД участвует в детоксикации супероксидного радикала, находится главным образом в митохондриях и пероксисомах [10].

Марганец способствует утилизации СО₂ растениями, чем повышает интенсивность фотосинтеза, участвует в процессах восстановления нитратов и ассимиляции азота растениями. Марганец способствует переходу активного Fe(II) в Fe(III), что предохраняет клетку от отравления, ускоряет рост организмов и т.д. При избытке марганца в среде нарушается гормональный обмен растений. Нарушения в гормональном обмене сопровождаются подавлением растяжения клеток.

При недостатке марганца в почвах возникают заболевания растений, характеризующиеся в общем появлением на листьях растений хлоротичных пятен, которые в дальнейшем переходят в очаги некроза. Обычно при этом заболевании происходит задержка роста растений и их гибель [11].

Результаты опытов по исследованию воздействия водных растворов солей меди, кобальта и марганца на рост корешков редиса приведены на рисунке 1. Пунктирными линиями на рисунке изображены результаты двух контрольных опытов по проращиванию семян редиса в дистиллированной воде. В «контрольных» вариантах взят усреднённый диапазон значений длины корешков, полученный в результате проведения двух параллельно заложенных контрольных экспериментов [12]. На рисунке 1 этот диапазон ограничен двумя пунктирными линиями.

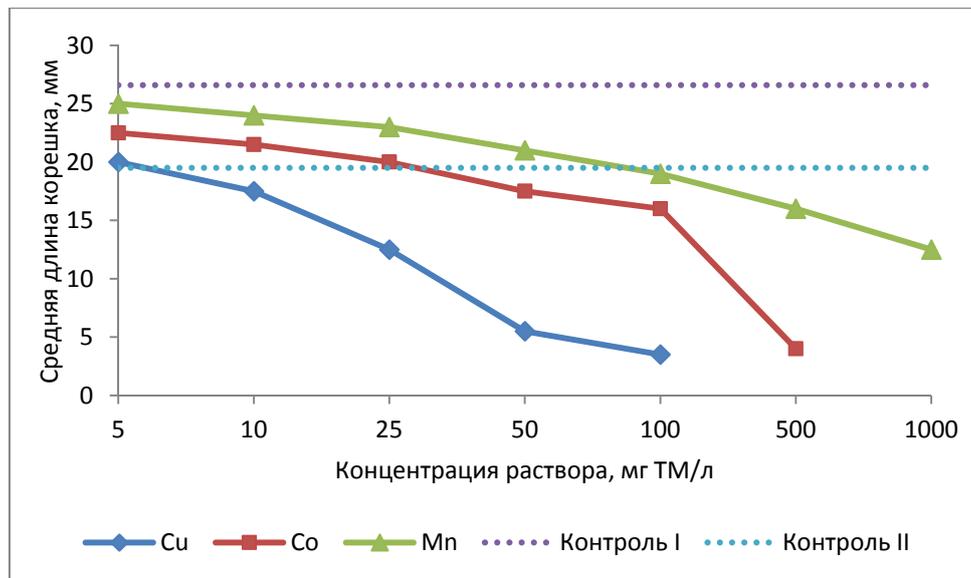


Рис. 1. Влияние различных концентраций ТМ на рост корешков редиса

Из рисунка 1 видно, что растворы с концентрацией ионов меди 5-10 мг/л не проявляют ярко выраженного токсического эффекта. Раствор с концентрацией ионов меди 25 мг/л является граничным. При дальнейшем увеличении в растворе концентрации ионов меди в диапазоне от 25 до 100 мг/л наблюдается выраженное угнетающее действие.

Анализ результатов показывает, что ни одна из концентраций кобальта в водном растворе не обладает выраженным стимулирующим эффектом, но в то же время многие из них не оказывают выраженного отрицательного эффекта, поскольку укладываются в область возможных значений, определенных как «контрольные». Можно считать, что диапазон концентраций, при которых редис не получает токсическое воздействие, от 0 до 50 мг/л ионов Co^{2+} . Выраженным ингибирующим воздействием обладает водный раствор с концентрацией тяжелого металла 500 мг/л. Рост корешков в этих условиях возможен, но растение сильно угнетается.

Анализируя график, можно сделать вывод о том, что марганец при высоких концентрациях (500-1000 мг/л) оказывает ингибирующее действие на семена редиса. При меньших концентрациях марганца (1-100 мг/л) рост корешков редиса подобен их росту на дистиллированной воде.

Для оценки комбинированного действия тяжелых металлов в работе по вышеописанной методике было проведено проращивание семян редиса в бинарных растворах металлов Mn и Co, Mn и Fe, Mn и Cu, Mn и Zn, Mn и Ni (рис. 2).

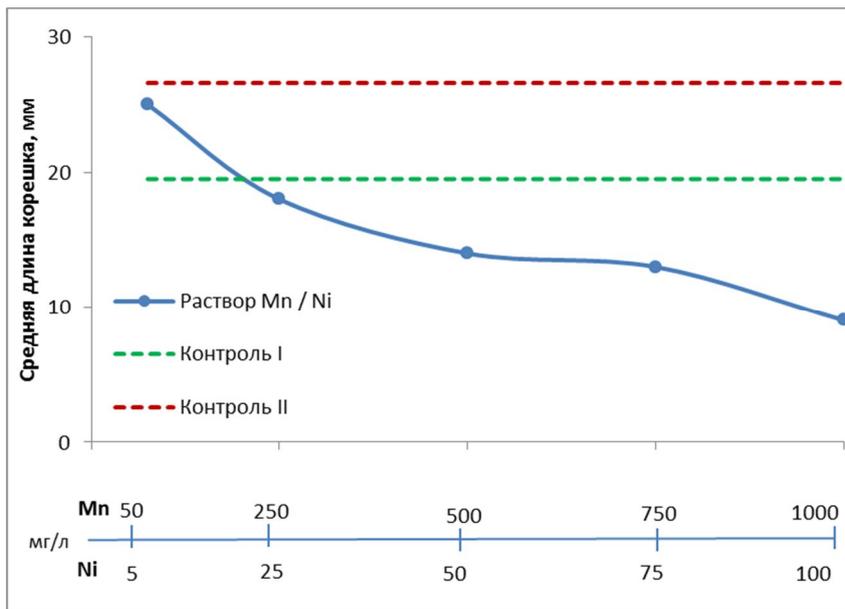
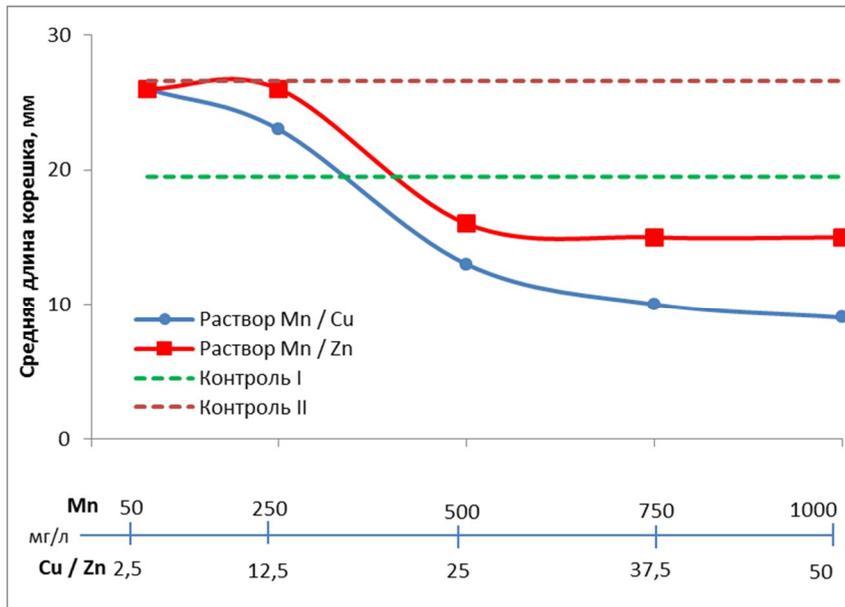
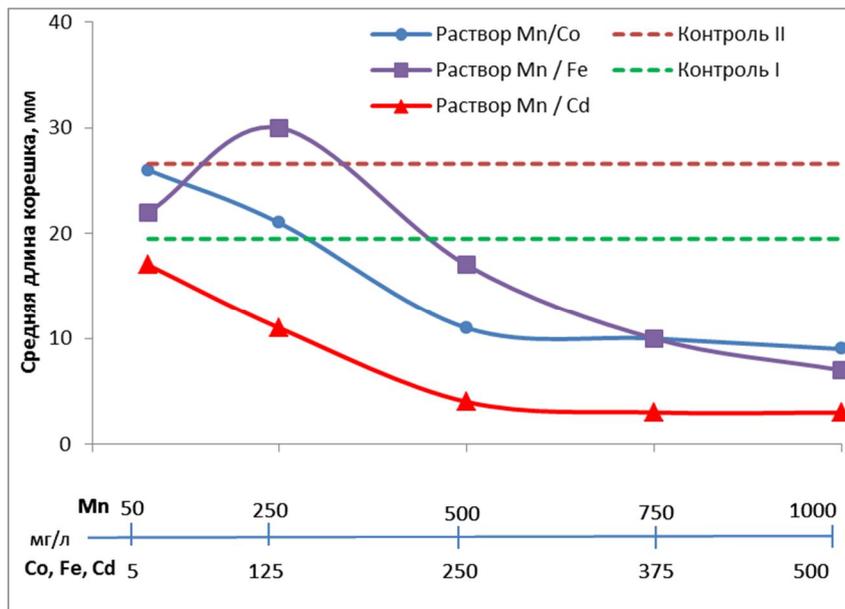


Рис. 2. Влияние различных концентраций смеси ТМ на рост корешков редиса

Из графика видно, что в смеси 300 Mn / 150 Co мг/л рост корешков редиса подобен их росту в дистиллированной воде, при более высоких концентрациях рост корешков угнетается. Смесь марганца и меди более токсична, т.к. только в сочетании 350 Mn / 15 Cu мг/л средняя длина корешков редиса соответствует контрольным значениям, весь остальной исследуемый диапазон является областью токсического действия. Сравнение смесей марганца с цинком и с медью свидетельствует о большей токсичности последней.

Стимулирующий эффект оказывает раствор Mn и Fe в области концентраций от 80 Mn / 48 Fe до 300 Mn / 180 Fe мг/л, при увеличении концентраций выше 500 Mn / 250 Fe мг/л наблюдается угнетение проростков.

Наиболее токсичным оказался раствор Mn и Cd, так как длина корешка даже при самой низкой из анализируемых концентраций уже была ниже величин контрольного диапазона, а при концентрации раствора 500 Mn / 250 Cd мг/л она составила всего 4 мм.

Полученные данные позволяют выделить три диапазона концентраций бинарных смесей ТМ, оказывающих разное воздействие на проращивание: области стимулирующего, нейтрального и угнетающего действия (табл. 2).

Таблица 2

Диапазоны концентраций ТМ, оказывающих разное воздействие на рост корешков редиса

Область концентраций	Начало области концентраций ТМ, мг/л											
	Mn / Co		Mn / Fe		Mn / Cd		Mn / Cu		Mn / Zn		Mn / Ni	
Стимулирующая	-	-	80	48	-	-	-	-	-	-	-	-
Нейтральная	50	5	300	180	-	-	50	2,5	50	2,5	50	5
Угнетающая	240	144	500	250	5	50	300	15	370	18,5	150	15

Таким образом, проращивание семян редиса оказалось достаточно устойчиво к действию ТМ. Установлено, что наиболее выраженное угнетение проращивания корешков редиса наблюдалось в растворе солей меди, в меньшей степени этот эффект был выражен при проращивании в растворах солей марганца и кобальта. Эксперимент по проращиванию семян в растворе, содержащем смеси солей металлов, показал, что при совместном присутствии в растворе солей марганца и кобальта наблюдается снижение токсичности кобальта. Так, при проращивании семян только в присутствии кобальта зона токсического действия начиналась при его концентрации 50 мг/л, при воздействии кобальта вместе с марганцем, рост корешков начинал угнетаться при концентрациях выше 350 Mn / 150 Co мг/л. То есть можно предположить наличие антагонистического взаимодействия между этими ионами.

Согласно данным работы [13] подобная тенденция наблюдается и в почве: установлено, что поглощение элементов растениями зависит от содержания в почве

элемента-конкурента. Эта связь является прямой пропорциональной при низком содержании элемента-конкурента в почве (синергизм) и превращается в обратную (антагонизм) при высоком содержании в почве элементов-конкурентов [14]. В данном исследовании медь и марганец подобного взаимного влияния не обнаружили, так как область токсического действия меди совпадает при проращивании отдельно и в смеси солей металлов. В обоих экспериментах по проращиванию семян в смеси солей металлов токсическое действие проявлялось при более низкой концентрации марганца (300-350 мг/л в смеси, 500 мг/л отдельно).

Проведённые эксперименты по определению диапазонов ТМ, при которых они оказывают стимулирующее, нейтральное и угнетающее действие на процесс формирования проростков растений, свидетельствуют о возможности использования метода биотестирования для определения пригодности конкретных растений для фиторемедиации почв в зависимости от уровня их загрязнённости тяжёлыми металлами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-44-020574.

Список литературы

1. Мазей Н.Г., Медная А.Е. Влияние тяжёлых металлов и пониженных температур на морфо-физиологические процессы проростков гречихи и пшеницы // Известия ПГПУ им В.Г. Белинского. - 2011. - № 25. - С. 624–631.
2. Лапиров А.Г., Лебедева О.А. Влияние азотнокислых солей некоторых тяжёлых металлов на начальные этапы онтогенеза шелковника волосистолистного (*Batrachium trichophyllum* (Chaix) Bosch.) // Вестн. Том. гос. ун-та. - 2009. - № 323. - С. 364-369.
3. Биологические методы оценки качества объектов окружающей среды: учеб. пособие. В 2 ч. / С.М. Чеснокова, Н.В. Чугай; Владим. гос. ун-т. – Владимир: Изд-во Владим. гос. ун-та, 2008. – Ч. 2. Методы биотестирования. - 92 с.
4. Елизарьев Е.Н. Токсическое действие тяжёлых металлов // Актуальные вопросы университетской науки. Сборник научных трудов. – Уфа, 2016. - С. 110-120.
5. Коджакова С.З. Биологическая роль меди в живых организмах // Новая наука: от идеи к результату. - 2016. - № 5-3 (84). – С. 8-12.
6. Титов А.Ф. Тяжёлые металлы и растения / А.Ф. Титов, Н.М. Казнина, В.В. Таланова. - Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. - 194 с.
7. Багдасарян А.С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: дис. ... канд. биол. наук. - Ставрополь, 2005. – 160 с.

8. Устойчивость растений к тяжелым металлам / А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен. - Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. - 172 с.
9. Рязанов А.В., Можаров А.В., Поздняков А.П. Влияние соединений некоторых тяжелых металлов на процесс формирования проростков пшеницы // Вестник Тамбовского университета. Сер.: Естественные и технические науки. - 2009. - № 1. - С. 196-197.
10. Репкина Н.С., Таланова В.В., Титов А.Ф. Влияние тяжелых металлов на экспрессию генов у растений // Труды КарНЦ РАН. - 2013. - № 3. - С. 31-45.
11. Тюрганова А.В., Скрыпник Л.Н. Биотестирование почв техногенных зон города Калининграда с использованием растительных организмов // Образование и наука в современных условиях. - 2016. - № 2-1 (7). – С. 16-18.
12. Сиделев С.И. Математические методы в биологии и экологии: введение в элементарную биометрию: учебное пособие. – Ярославль: ЯрГУ, 2012. – 140 с.
13. Спицына С.Ф., Томаровский А.А., Оствальд Г.В. Проявление синергизма и антагонизма между ионами меди, цинка и марганца при поступлении их в растения // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. - № 10 (120). - С. 29-32.
14. Елизарьева Е.Н. Зависимость аккумуляции растениями никеля и кадмия от их концентрации / Е.Н. Елизарьева, Ю.А. Янбаев, А.Ю. Кулагин, И.Ю. Усманов // Вестник Нижневартского государственного университета. - 2017. - № 1. - С. 109-116.