

УДК 631.416.8:633.16

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЦИНКА В ПОЧВЕ НА СЕМЕННОЕ ПОТОМСТВО ЯЧМЕНЯ

Васильев Д.В.*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»,
Обнинск, e-mail: treworqwert@mail.ru*

Среди тяжелых металлов цинк занимает особое место. Являясь для растений важным микроэлементом он в то же время очень токсичное вещество, активно накапливающееся в окружающей среде. И если непосредственное влияние высоких концентраций цинка на растения уже достаточно хорошо изучено, то о последствиях такого влияния на их семенное потомство пока известно мало. Данное исследование показало, что высокие концентрации Zn в почвах (в 4–9 раз выше значений ОДК) могут негативно сказываться на качестве семенного потомства ячменя. Возрастает частота хромосомных aberrаций, уменьшается энергия прорастания семян и митотическая активность клеток проростков. Но так как Zn является важным для развития растений микроэлементом, то его небольшие концентрации (не более чем в 1–2 раза превышающие значения ОДК) способствуют увеличению всхожести семян. Уровень влияния цинка на семенное потомство зависит от агрохимических свойств и типа почв. Рост частоты цитогенетических aberrаций, снижение всхожести, энергии прорастания, митотической активности у клеток корневой меристемы семенного потомства ячменя, выращенного на дерново-подзолистых почвах, наблюдается при меньших концентрациях цинка, чем на торфяной почве и черноземе.

Ключевые слова: цинк, ячмень, семенное потомство, всхожесть, энергия прорастания, хромосомные aberrации

INFLUENCE OF DIFFERENT ZINC CONCENTRATIONS IN SOIL ON SEED BARLEY

Vasilev D.V.*Federal State Budget Scientific Institution «All-Russian Scientific Research Institute of Radiology
and Agroecology», Obninsk, e-mail: rirae70@gmail.com*

Among heavy metals, zinc has a special place. Being an important trace element for plants, it is at the same time a very toxic substance that actively accumulates in the environment. And if the direct effect of high concentrations of zinc on plants is already well studied, then little is known about the consequences of such an effect on their seed progeny. This study showed that high concentrations of Zn in soils (4 to 9 times higher than the ODC values) can adversely affect the quality of seed progeny of barley. The frequency of chromosomal aberrations increases, the seed germination energy and the mitotic activity of seedling cells are reduced. But since Zn is important for the development of plants as a trace element, its low concentrations (no more than 1-2 times higher than the ODC values) contribute to an increase in seed germination. The level of influence of zinc on seed progeny depends on the agrochemical properties and the type of soil. The increase in the frequency of cytogenetic aberrations, reduction in germination, germination energy, mitotic activity in the root meristem cells of barley seed progeny grown on sod-podzolic soils is observed at lower zinc concentrations than on peat soil and black soil.

Keywords: zinc, barley, seed progeny, germination, germination energy, chromosomal aberrations

Загрязнение почв тяжелыми металлами, самыми токсичными химическими элементами [1–3], является одной из основных причин снижения качества сельскохозяйственной продукции. Цинк, являясь тяжелым металлом, относится к веществам 1-го класса опасности [4], а благодаря быстрому накоплению в окружающей среде, он также считается одним из наиболее значимых её загрязнителей [1]. Достигая в растениях токсичных концентраций, цинк негативно влияет на их рост, развитие, объем и качество урожая. В то же время недостаток цинка как необходимого для растений микроэлемента оказывает негативное влияние на углеводный и белковый обмен, окислительные процессы, синтез ДНК, РНК, хлорофилла, формирование и развитие генеративных органов растений [5–7]. Так как недостаток или избыток цинка в почвах может стать

лимитирующим фактором, определяющим урожайность сельскохозяйственных растений и качество их семенного потомства, то актуально выявление оптимального и максимально допустимого уровня содержания цинка в почвах.

В связи с этим целью представленной работы является оценка влияния различных концентраций цинка в разных типах почв на семенное потомство ячменя.

Материалы и методы исследования

Для оценки токсичности обычно используются показатели нарушения развития и роста растений [8], а методы цитогенетического анализа считаются наиболее эффективными для оценки уровня мутагенеза, вызванного тяжелыми металлами. В данном исследовании изучалась энергия прорастания, всхожесть и цитогенетические

абберации в клетках апикальной меристемы проростков семенного потомства ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт «Зазерский 85»), полученного в вегетационном эксперименте на трех типах почв с разной степенью загрязнения цинком. Водный раствор нитрата цинка вносился в дерново-подзолистую супесчаную окультуренную почву в концентрациях: 25; 50; 100; 150; 250 мг/кг воздушно-сухой почвы. В чернозем типичный тяжелосуглинистый в концентрациях: 50; 100; 250; 500; 750 мг/кг воздушно-сухой почвы. В торфяную болотную низинную почву в концентрациях: 250; 500; 1000 мг/кг воздушно-сухой почвы.

Полученный урожай семян хранился в бумажных пакетах в сухом помещении в течение нескольких месяцев. Затем семена проращивались в термостате, при температуре 21 °С, в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой. Во время проращивания семян оценивали их энергию прорастания на 3 сутки, а также всхожесть на 7 сутки от момента замачивания.

Чтобы получить клетки первого митоза, проросшие корешки, имеющие длину 1–1,5 см, фиксировались ацетоалкоголем. Для окрашивания препаратов использовался ацетоорсеин.

В приготовленных временных давленных препаратах определялось число клеток с цитогенетическими абберациями (на вариант исследовали в среднем от 3 до 6 тысяч клеток находящихся на стадии ана-телофазы). Клетки с нераспознаваемыми нарушениями из анализа исключались. Применение анафазного метода позволяет регистрировать в клетках корневой меристемы проростков семян абберации, появившиеся в период от образования гамет до созревания семян, так как возникшие на вегетативной стадии (до цветения) хромосомные нарушения элиминируются в мейозе (кроме нерегистрируемых данным методом симметричных инверсий и транслокаций).

Расчет митотического индекса (MI) проводился по формуле

$$MI = \frac{P + M + A + T}{I + P + M + A + T} * 100,$$

где *P* – число клеток на стадии профазы; *M* – число клеток на стадии метафазы; *A* – число клеток на стадии анафазы; *T* – число клеток на стадии телофазы; *I* – число клеток на стадии интерфазы.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась методами вариационной статистики в редакторе MS Excel. Необходимый объем выборки для оценки

изучаемых параметров рассчитывался методом статистического анализа эмпирических распределений [9]. Полученные в ходе эксперимента выборки проверялись на наличие выбросов, которые исключали из рассмотрения. Оценка статистической значимости отличий исследуемых показателей проводилась по критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Наибольшая вероятность обнаружить ранние эффекты негативного влияния цинка на семенное потомство существует на клеточном уровне. Применение методов цитогенетического анализа позволило выявить статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение числа хромосомных нарушений в корневой меристеме проростков семян полученных на черноземе и дерново-подзолистых почвах имеющих высокие концентрации цинка, в 4–7 раз превышающие значения ОДК для данных типов почв [10]. У проростков семян, полученных на торфяной болотной низинной почве, при высоких концентрациях цинка наблюдается тенденция к увеличению числа клеток с цитогенетическими абберациями (таблица).

Также надо отметить, что статистически значимый рост частоты хромосомных аббераций у семян, выращенных на дерново-подзолистых почвах, начинается при значительно меньших концентрациях металла, чем у семян, выращенных на черноземе или торфяной почве (таблица). Это, вероятно, связано с тем, что повышенная кислотность, характерная для дерново-подзолистых почв, низкое содержание органического вещества и малый объем катионного обмена в сравнении с черноземом и торфяной почвой, способствует большей доступности Zn для растений и его последующему накоплению в токсичных концентрациях [5].

Считается, что в случаях, когда не известен фактор, индуцирующий повышенную частоту цитогенетических нарушений, о его природе можно судить по соотношению регистрируемых типов аббераций. Хотя техногенные поллютанты и не способны создавать новые виды хромосомных аббераций, которые не наблюдались бы и в контроле, но соотношение разных типов индуцируемых нарушений может зависеть от природы действующего фактора [11]. Считается, что тяжелые металлы, в том числе и цинк, могут повышать долю геномных нарушений [12]. Анализ соотношения зарегистрированных в ходе исследования разных видов цитогенетических нарушений действительно позволил обнаружить тенденцию к росту доли геномных аббераций, по мере увеличения

содержания Zn в почвах. Причем число геномных нарушений статистически значимо превышало контрольный уровень при концентрации Zn 250 мг/кг воздушно-сухой дерново-подзолистой почвы.

Устойчивость растений к воздействию неблагоприятных факторов во многом определяется способностью их меристем сохранять клеточный состав и поддерживать нормальные темпы деления клеток. Цинк, как и другие тяжелые металлы, способен снижать митотическую активность клеток [13]. В исследовании статистически значимое снижение митотической активности было выявлено у проростков семян, полученных на дерново-подзолистой почве (рис. 1). На других типах почв с ростом концентрации цинка митотическая активность клеток статистически значимо не изменялась.

О влиянии различных концентраций Zn в почвах на посевные качества семян урожая ячменя можно узнать с помощью анализа всхожести и энергии прорастания семян. В исследовании было установлено, что при концентрациях Zn 100 – 225 мг/кг

энергия прорастания семян, полученных на дерново-подзолистой почве, статистически значимо снижалась по сравнению с контролем (рис. 2). В других вариантах также наблюдается тенденция к снижению энергии прорастания ($r = 0,51-0,53$) по мере роста концентрации цинка.

Всхожесть семян имеет тенденцию к снижению ($r = 0,51-0,59$) с ростом концентрации металла во всех исследованных типах почв. Но при невысоких концентрациях (в зависимости от типа почвы – 25÷250 мг/кг) всхожесть может увеличиваться (рис. 3). У семян, полученных на дерново-подзолистой и торфяной почве увеличение всхожести статистически значимо. Повышение всхожести семян, полученных на почвах с низким загрязнением, вероятно, связано с потребностью растений в Zn, как важном микроэlemente, влияющем на формирование и развитие семян и генеративных органов. Цинк токсичен только при превышении определенного критического для каждого вида растений уровня.

Цитогенетические нарушения в корневой меристеме проростков семян ячменя

Варианты	Аберрантные клетки, %	Типы аберраций, %		
		f'+m'	f''+m''	g+mp
Дерново-подзолистая почва				
Контроль	0,80 ± 0,07	17,95 ± 0,05	46,15 ± 0,07	35,90 ± 0,06
25 мг/кг	0,78 ± 0,07	4,00 ± 0,03*	58,00 ± 0,08	38,00 ± 0,07
50 мг/кг	0,82 ± 0,08	10,00 ± 0,07	41,67 ± 0,08	48,33 ± 0,08
100 мг/кг	1,02 ± 0,09	12,28 ± 0,06	38,60 ± 0,08	49,12 ± 0,07
150 мг/кг	0,98 ± 0,10	14,55 ± 0,08	36,36 ± 0,07	49,09 ± 0,07
225 мг/кг	1,31 ± 0,08***	11,67 ± 0,05	31,67 ± 0,06	56,67 ± 0,05**
Чернозем тяжелосуглинистый типичный				
Контроль	0,82 ± 0,06	24,05 ± 0,06	34,18 ± 0,06	41,77 ± 0,06
50 мг/кг	0,83 ± 0,06	16,42 ± 0,07	52,24 ± 0,07	31,34 ± 0,05
100 мг/кг	0,92 ± 0,10	21,67 ± 0,05	43,33 ± 0,11	35,00 ± 0,09
250 мг/кг	0,84 ± 0,10	18,64 ± 0,09	27,12 ± 0,09	54,24 ± 0,09
500 мг/кг	0,99 ± 0,12	22,45 ± 0,07	28,57 ± 0,10	48,98 ± 0,08
750 мг/кг	1,19 ± 0,13*	26,23 ± 0,08	16,39 ± 0,05	57,38 ± 0,10
Торфяная болотная низинная почва				
Контроль	0,81 ± 0,09	17,72 ± 0,05	32,91 ± 0,06	49,37 ± 0,06
250 мг/кг	0,81 ± 0,07	17,91 ± 0,07	28,36 ± 0,06	53,73 ± 0,07
500 мг/кг	0,90 ± 0,09	25,00 ± 0,06	19,12 ± 0,07	55,88 ± 0,08
1000 мг/кг	1,07 ± 0,10	15,79 ± 0,07	24,56 ± 0,07	59,65 ± 0,07

Примечание. m', f' – хроматидные (одиночные) мосты и фрагменты; m'', f'' – хромосомные (двойные) мосты и фрагменты; g – отставания хромосом; mp – многополюсные митозы, * – статистически значимое отличие от контроля: * – $p < 5\%$, ** – $p < 1\%$, *** – $p < 0,1\%$.

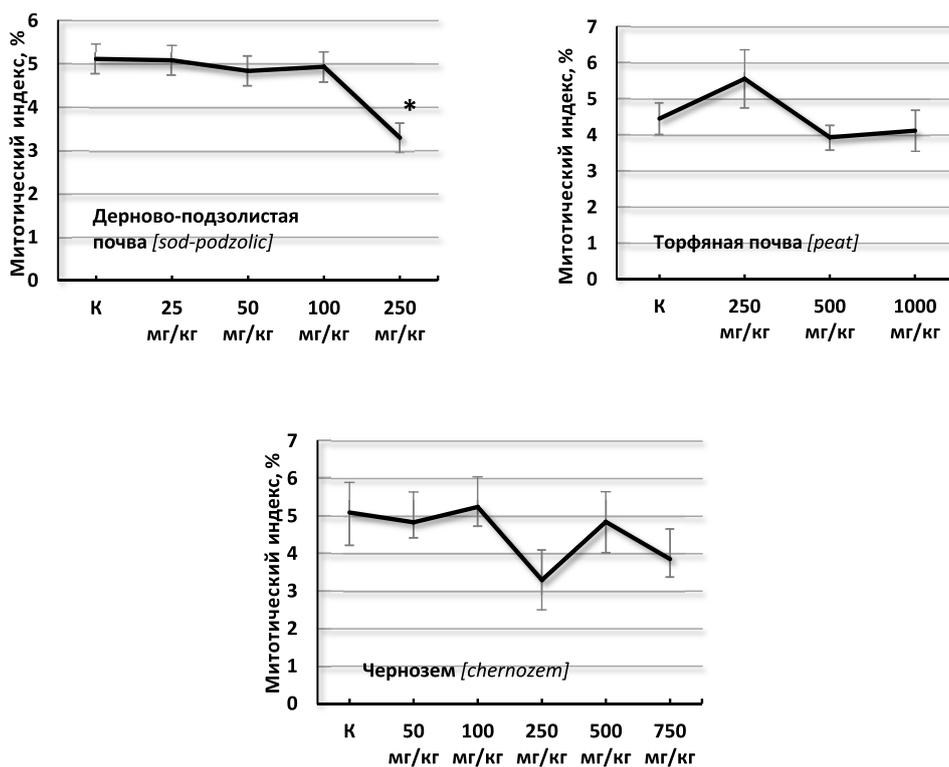


Рис. 1. Митотическая активность клеток.
Примечание. * – статистически значимое отличие от контроля

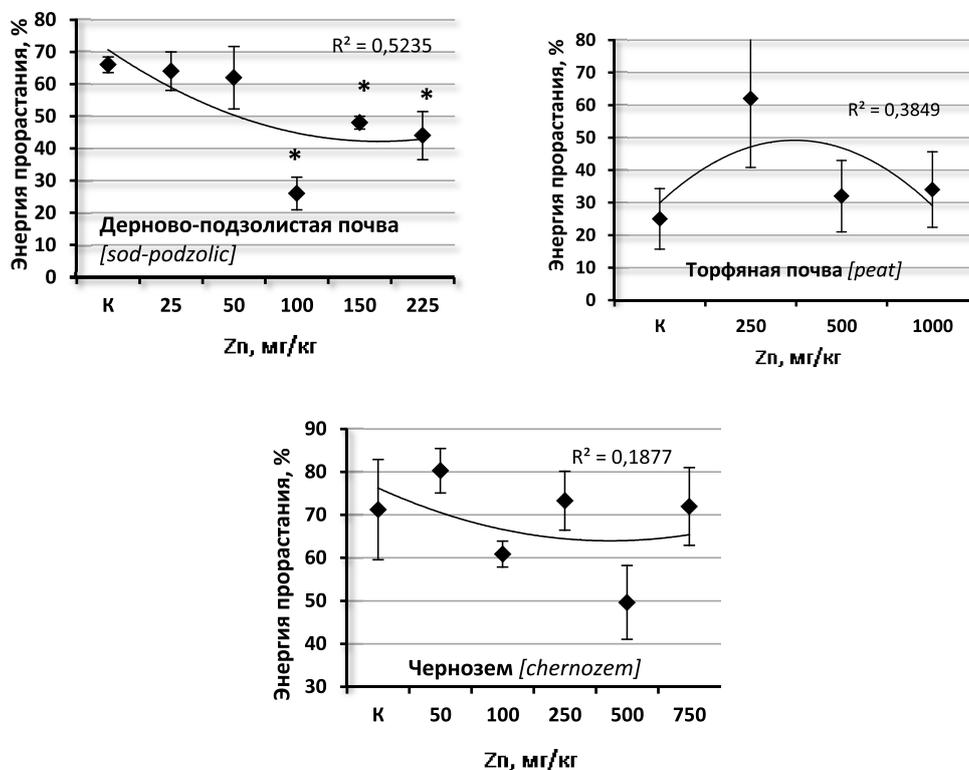


Рис. 2. Энергия прорастания семян ячменя.
Примечание. * – статистически значимое отличие от контроля

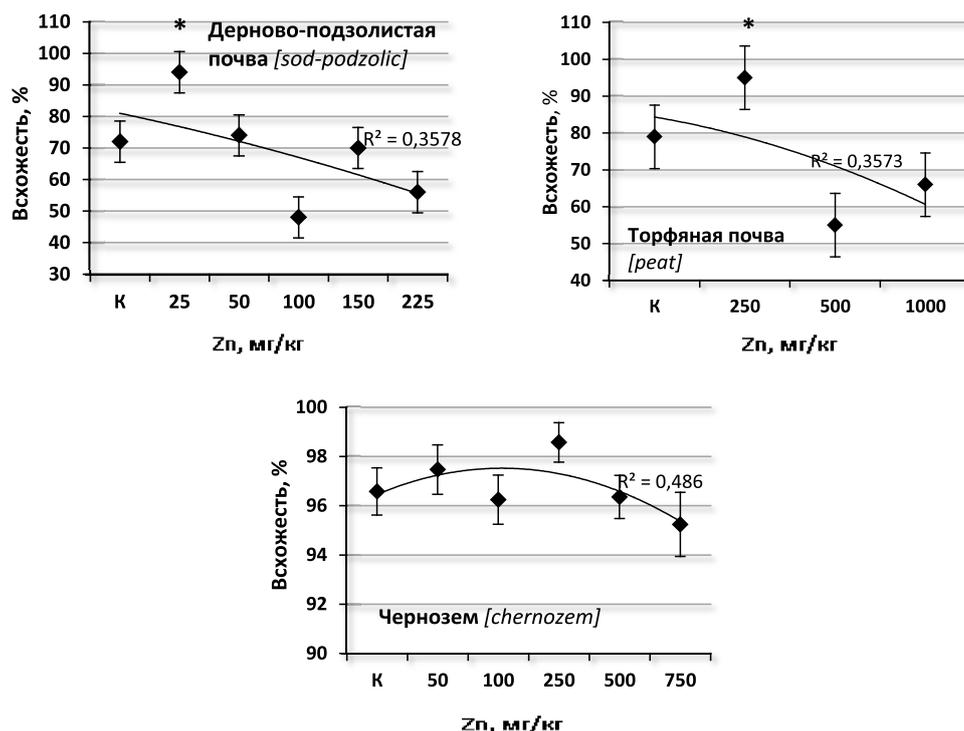


Рис. 3. Всхожесть семян. Примечание. * – статистически значимое отличие от контроля

Заклучение

Результаты исследования показали, что невысокое (не более чем в 1–2 раза) превышение установленных уровней ОДК содержания цинка в почвах способно положительно сказываться на всхожести полученного семенного потомства ячменя. Более значительное превышение уровня значений ОДК (более чем в 4 раза) уже способно снижать энергию прорастания семян, митотическую активность клеток корневой меристемы проростков и индуцировать в них повышенную частоту цитогенетических нарушений. Вероятность токсичного действия Zn на семенное потомство определяется типом и агрохимическими свойствами почв, на которых был получен урожай семян. На торфяной почве и черноземе рост частоты цитогенетических нарушений и изменение качества семенного потомства происходит при больших концентрациях цинка, чем на дерново-подзолистой почве, за счет меньшей доступности цинка для растений [5].

Автор благодарит лабораторию № 14 ФГБНУ ВНИИРАЭ за предоставленные семена.

Список литературы

- Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва – растение: Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. 151 с.
- Villiers F., Ducruix C., Hugouvioux V. et al. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches. *Proteomics*. 2011. V. 11. P. 1650–1663.
- Сатаров Г.А. Экологические аспекты применения агрохимикатов // Ульяновский медико-биологический журнал. 2013. № 1. С. 138–147.
- ГОСТ 17.4.3.04-85. Охрана природы. Почвы. Общие требования к контролю и охране от загрязнения. Стандартформ. М., 2008. С. 1–5.
- Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants. 4th Edition. Boca Raton, FL: Crc Press, 2010. 548 p.
- Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. 194 с.
- Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М. Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам: Институт биологии КарНЦ РАН. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. 77 с.
- Опекунов А.Ю., Ганул А.Г. Теория и практика экологического нормирования в России. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2014. 332 с.
- Лемешко Б.Ю., Горбунова А.А., Лемешко С.Б., Постовалов С.Н., Рогожников А.П., Чимитова Е.В., Компьютерное моделирование и исследование вероятностных закономерностей // Вестник Томского государственного университета. 2013. № 1 (22). С. 74–85.
- ГН 2.1.7.2511-09 Ориентировочно-допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве. М., 2009. С. 1–6.
- Евсеева Т.И., Гераськин С.А., Вахрушева О.М. Оценка вклада факторов радиационной и химической природы в формирование биологических эффектов в популяции горошка мышиного с территории складирования отходов радиевого производства (пос. Водный, Республика Коми) // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54. № 1. С. 85–96.
- Гераськин С.А., Сарапульцева Е.И., Цаценко Л.В., Глазер В.М., Абилов С.К., Смирнова С.Г., Замулаева И.А., Комарова Л.Н., Степченко Е.И., Инге-Вечтомов С.Г., Ким А.И., Крутенко Д.В., Евсеева Т.И., Михайлова Г.Ф., Амосова Н.В. Биологический контроль окружающей среды: генетический мониторинг. М.: Академия, 2010. 208 с.
- Ибрагимов Э.Э. Митотическая активность клеток корневой меристемы *Allium* сера L. при совместном действии пестицидов и тяжелых металлов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». 2014. Т. 27 (66). № 1. С. 56–63.