

ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН и РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ **ЧАСТУХИ ПОДОРОЖНИКОВОЙ** (*Alisma plantago-aquatica* L.) в РАСТВОРАХ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Изучено влияние $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ на начальные этапы онтогенеза *Alisma plantago-aquatica*. Соли Cu, Ni и Cr не препятствуют нормальному развитию проростков в концентрации 1 мг/л, Zn – 1 и 10 мг/л. Концентрации 10 и 25 мг/л вызывают некрозы семядольных листьев (все соли) и нарушение развития боковых корней (соли Cr). При высоких концентрациях Zn отмечали гибель проростков, Ni, Cr и Cu – прекращение развития после проклевывания корешком зародыша покровов семени.

Введение

Некотрые тяжелые металлы (ТМ) (никель, медь, цинк, и др.) в микродозах жизненно необходимы, однако если концентрация их доступных форм превышает определенные пределы, они оказывают отрицательное влияние на развитие растений, включая самые ранние этапы онтогенеза [1-3].

Высокие дозы никеля вызывают угнетение роста и продуктивности, подавляют интенсивность фотосинтеза, вызывают хлорозы и некрозы на листьях, побурение и торможение роста главного корня, ингибируя деление и растяжение клеток у проростков [4]. Повышение активности меди в среде снижает уровень биосинтеза хлорофилла у высших растений, изменяет белковый состав хлоропластов, ингибирует транспорт электронов по фотосинтетической цепи. Особенно восприимчивы к избытку меди молодые ткани и органы [5-7].

Е.Г. Крылова*,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник,
ФГБУН Институт биологии
внутренних вод им. И.Д. Папанина
Российской академии наук

Высокое содержание цинка сопровождается хлорозом молодых листьев, снижением усвоения меди и железа [8, 9]. Токсичное действие хрома проявляется в снижении темпов роста и развития, увядании надземной части, повреждении корневой системы и хлорозе молодых листьев, снижении содержания незаменимых макро- и микроэлементов [10].

Описанные выше изменения под воздействием ТМ, а также вопросы накопления в вегетативных и генеративных органах и выработки механизмов адаптации исследованы для наземных и водных растений. Однако влияние ТМ на прорастание семян и развитие проростков растений, особенно водных, освещено недостаточно. Поэтому целью настоящей работы было выявление влияния растворов солей никеля, меди, цинка и хрома на начальные этапы онтогенеза широко распространенного прибрежно-водного растения частухи подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica* L.), в репродуктивной стратегии которого основную роль играет генеративное размножение.

Материалы и методы исследования

Семена частухи подорожниковой обладают внутренними физиологическими механизмами, определяющими длительность их покоя в условиях данной климатической зоны. Для их успешного прорастания требуется холодная влажная стратификация при температуре +4–8 °С в течение 4–5 месяцев, после которой семена проращивали в люминостате в чашках Петри диаметром 90 мм при температуре 20–25 °С на фильтровальной бумаге, смоченной растворами солей ТМ $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,

* Адрес для корреспонденции: panova@ibiw.yaroslavl.ru

Таблица 1

Основные показатели прорастания семян под влиянием ТМ

Концентрация металла, мг/л	Лag-время, сут.	Период прорастания, сут	Лабораторная всхожесть, %
Никель			
Контроль	2	5	65,2±4,6
1	2	4	84,0±10,6
10	2	4	85,3±12,2
25	2	4	76,0±12,0
50	2	4	84,0±17,4
100	2	5	76,0±6,9
250	3	8	66,7±26,3
500	3	8	34,7±30,0
Медь			
Контроль	2	5	93,3±8,3
1	2	6	96,0±4,0
10	3	6	69,3±25,7
25	3	6	91,3±2,3
50	3	6	21,3±14,0
100	3	6	18,7±16,9
250	3	5	14,7±12,8
500	3	5	17,3±12,0
Цинк			
Контроль	2	5	49,3±22,0
1	2	5	50,7±8,3
10	3	5	77,3±4,6
25	3	6	57,3±12,2
50	3	6	45,3±11,5
100	3	5	56,0±14,4
250	3	6	64,0±16,0
500	3	6	54,7±4,6
Хром			
Контроль	2	7	92,0±1,0
1	2	6	97,3±1,1
10	3	7	84,0±1,0
25	3	8	80,0±2,6
50	2	7	80,0±0
100	2	7	82,6±1,5
250	3	8	66,8±5,0
500	3	8	66,6±6,8

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в объеме 15 мл в разных концентрациях (1, 10, 25, 50, 100, 250, 500 мг/л). Концентрации, рассчитанные на ион металла, готовились на дистиллированной воде, диапазон подбирали по рекомендации специалистов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Высокие концентрации использовали для выявления предела токсичности ТМ для прорастания семян (т.е. той концентрации, при превышении которой семена не прорастают). Контроль — дистиллированная вода. Длительность экспериментов составляла 15 сут. Опыты поставлены в разное время в трехкратной повторности, освещенность 3200 лк, фотопериод 9/15. Определяли время (сут) от начала эксперимента до прорастания (лаг-время), время (сут), в течение которого семена прорастали (период прорастания), количество проросших семян (%) в конце эксперимента (лабораторная всхожесть) и наблюдали за развитием проростков. За нормальное развитие принимали обычное состояние проростков, их листьев и корней без каких-либо повреждений и нарушений окраски. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Результаты представлены в виде средних и их стандартных отклонений.

Результаты и их обсуждение

Влияние никеля

Семена прорастали дружно — лаг-время было одинаково во всех вариантах, что свидетельствует об их нормальном дозревании и способности к прорастанию. Период прорастания значительно возростал при 250 и 500 мг/л. Лабораторная всхожесть была выше контрольного значения при концентрациях 1–250 мг/л. При 500 мг/л она уменьшалась вдвое (табл. 1).

Проростки начали зеленеть быстро (на 3 сут) в контроле и при 1–100 мг/л. Длина их в контроле, при 1 и 10 мг/л была до 7 мм, при 25–100 мг/л — до 3 мм. В остальных вариантах наблюдали только проклевывание корешком зародыша покровов семени. Семядольные листья появились в контроле на 4 сут, при концентрациях 1–50 мг/л на 6 сут. В вариантах с концентрациями 10–50 мг/л были отмечены изменения интенсивности их окраски разной степени. Концентрации 50 мг/л и выше вызывали некроз кончиков корней. При 100 мг/л про-

ростки позеленели, но семядольных листьев не образовали. При концентрациях 100–500 мг/л проростки отмирали на 6–7 сут, при 10–50 мг/л — на 9 сут. Нормально развитые проростки были отмечены только при 1 мг/л.

Влияние меди

Семена прорастали дружно во всех вариантах. Период прорастания от контрольного варианта практически не отличался. Лабораторная всхожесть была высокая при 1–25 мг/л, при 50–500 мг/л наблюдали ее снижение на 80–85 % (табл. 1).

Проростки в контроле, при 1 и 10 мг/л позеленели на 3 сут, длина их составила 7 мм. На 6 сут в контроле и при концентрациях 1–25 мг/л появились семядольные листья, при 50–500 мг/л семядоли позеленели, но уже на 6–8 сут начали отмирать, одновременно отмечен некроз кончиков корней. На 9 сут некроз затронул проростки при 10–25 мг/л. Нормально развивались проростки, как и под влиянием никеля, только при концентрации 1 мг/л, при этом наблюдали усиление интенсивности окраски листьев и увеличение их длины на 20 %.

Влияние хрома

Семена прорастали дружно и в контроле, и в растворах металла. Период прорастания был длиннее, чем в опытах с никелем и медью. Лабораторная всхожесть снижалась при концентрациях 250 и 500 мг/л на 27 % (табл. 1).

Проростки позеленели на 4 сут в контроле и при 1–50 мг/л массово, при 100 и 250 мг/л — единично. На 5 сут в контроле и при 1 мг/л появились семядольные листья, в остальных вариантах активно шло проклевывание корешком зародыша покровов семени. На 8 сут при 10–500 мг/л отмечали изменения в окраске семядольных листьев и отмирание боковых корней. На 10 сут проростки при 50–500 мг/л погибали. Нормальное развитие проростков отмечено только при 1 мг/л.

Влияние цинка

Семена прорастали дружно. Период прорастания почти одинаков во всех вариантах. Лабораторная всхожесть при всех концентрациях (исключая 50 мг/л) была выше контрольных значений (табл. 1).

Проростки позеленели на 3 сут в контроле и при 1–25 мг/л, на 4 сут — при 50–250 мг/л. На 5 сут в контроле и при 1–25

Ключевые слова: соли тяжелых металлов, прорастание семян, развитие проростков, *Alisma plantago-aquatica*

мг/л проростки с хорошо развитыми корнями достигали 12–15 мм. При 50–250 мг/л корни были маленькие, при 100 и 250 мг/л они быстро отмирали. В это же время при 25–250 мг/л отмечались изменения в окраске семядольных листьев, при 500 мг/л наблюдали только проклевывание корешком зародыша покровов семени. На 6 сут проростки начали погибать при 250 и 500 мг/л, на 8 сут — при 50–100 мг/л. Нормальное развитие проростков отмечено при 1 и 10 мг/л.

Несмотря на разное время постановки опытов, все семена были нормально созревшими и способными к прорастанию. Увеличение показателей лаг-время и период прорастания на солях ТМ свидетельствует о торможении начального этапа прорастания при набухании семян. Подобные изменения отмечены только при действии никеля в концентрациях 250 и 500 мг/л. Лабораторная всхожесть в контроле различалась, однако, во всех опытах действие ТМ проявлялось в ее колебаниях при разных концентрациях никеля, меди, хрома и цинка. Все ТМ в низких концентрациях (1 мг/л) стимулировали процесс прорастания, что совпадает с имеющимися в литературе данными [11]. Значительное уменьшение лабораторной всхожести наблюдалось только при действии меди в концентрациях 50–500 мг/л, что позволяет говорить о большей токсичности этого металла для прорастания семян частухи подорожниковой по сравнению с никелем, цинком и хромом. В литературе отмечено, что на элодею канадскую медь также оказывала более сильное токсическое действие, чем никель и цинк [2]. Возможно, медь — более сильный токсикант по причине ее способности вытеснять функциональные металлы из ферментов, взаимодействовать с биологическими мембранами и восстанавливать молекулярный кислород до его активных форм [5].

Уменьшение токсичности ТМ при достаточно высоких концентрациях, например, повышение лабораторной всхожести при 50 мг/л (никель), 25 мг/л (медь), 250 мг/л (цинк) может быть связано с активацией механизмов защиты и детоксикации ТМ [12]. Подобное явление было обнаружено нами у других видов водных растений [13]. По-видимому, ионы ТМ проникают через оболочку семени, т.к. при высоких концентрациях (медь) замедляют прорастание, нарушая процессы деления и растяжения

клеток [14]. Однако при исследуемых концентрациях всех ТМ нам не удалось обнаружить предела их токсичности для прорастания семян частухи подорожниковой, что свидетельствует о высокой устойчивости семян этого вида к действию ТМ.

Нормальное развитие проростков в растворах солей никеля, меди и хрома при концентрации 1 мг/л, в растворах соли цинка — при 1 и 10 мг/л свидетельствует о том, что эти концентрации не являются токсичными. Увеличение размеров листьев проростков и усиление интенсивности их окраски при 1 мг/л раствора сульфата меди говорит об активации низкими концентрациями металла биосинтеза хлорофилла. В работе с частухой подорожниковой [15] показано, что медь при 0,01–1 мг/л стимулирует ростовые процессы и увеличивает морфометрические показатели проростков. Подобный эффект низких концентраций ТМ, возможно, связан с активацией клеточного деления и увеличением размеров клеток.

Соли всех ТМ (никель, медь, хром при концентрациях 10 мг/л и выше, цинк — при 25 мг/л и выше) вызывали некроз листьев или ослабление процессов фотосинтеза в них, проявляющиеся в изменении интенсивности окраски и появлении пятен. Подобная реакция на действие никеля отмечена для элодеи канадской [16]. Развитие хлорозов является следствием изменений на фотосинтетическом уровне — нарушения ультраструктуры хлоропластов (расширение тилакоидных мембран, разрушение гран и системы тилакоидов), снижение активности ферментов синтеза хлорофилла и каротиноидов, разрушение пигментов ингибированием электрон-транспортной сети фотосинтеза, а также опосредованно через взаимодействие с обменом железа [17].

Растворы соли хрома при 10 мг/л металла, а также действие никеля, меди и цинка при 50 мг/л и выше вызывали отмирание корней, что, возможно, является следствием изменений, происходящих на клеточном уровне в меристематической зоне, т.к. ее клетки чувствительны к действию ТМ, как химических агентов. [18].

При действии никеля и меди в концентрациях 250 и 500 мг/л, а хрома и цинка — 500 мг/л наблюдали только проклевывание корешком зародыша покровов семени. Эти концентрации не позволяли проросткам частухи подорожниковой развиваться, т.е. являлись высокотоксичными для них.

Заключение

Семена частухи подорожниковой обладают высокой устойчивостью к действию исследованных ТМ, т.к. не удалось обнаружить предела токсичности для прорастания семян. Медь более токсична и вызывала значительное уменьшение лабораторной всхожести семян при 50–500 мг/л.

Медь, никель и хром не препятствовали нормальному развитию проростков в концентрации 1 мг/л, цинк — в концентрациях 1 и 10 мг/л. При действии более высоких концентраций отмечены некрозы семядольных листьев (все соли), ослабление процессов фотосинтеза в них и нарушение развития боковых корней (хром). Концентрации 250 и 500 мг/л вызывали гибель проростков или прекращение их развития после проклевывания корешком зародыша покровов семени.

Литература

1. Добровольский В.В. Тяжелые металлы: загрязнение окружающей среды и глобальная экология // Тяжелые металлы в окружающей среде / Под ред. В.В. Добровольского. М.: Изд-во МГУ. 1980. С. 3–12.
2. Малева М.Г. Реакция гидрофитов на загрязнение среды тяжелыми металлами / М.Г. Малева, Г.Ф. Некрасова, В.С. Безель // Экология. 2004. № 4. С. 266–272.
3. Мур Дж. Тяжелые металлы в природных водах. Контроль и оценка влияния / Мур Дж., Рамамурти С. Пер. с англ. Д.В. Гричука и др. Под ред. Ю.Е. Саета. М.: Мир, 1987. С. 177–203.
4. Серегин И.В. Токсическое действие и распределение никеля в корнях кукурузы / И.В. Серегин, А.Д. Кожевникова, Е.М. Казюмина, В.Б. Иванов // Физиол. растений. 2003. Т. 50. № 5. С. 793–800.
5. Демидчик В.В. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений / В.В. Демидчик, А.И. Соколик, В.М. Юрин // Успехи совр. биологии 2001. Т. 121. № 5. С. 511–525.
6. Косицин А.В. Действие тяжелых металлов на растения и механизмы металлоустойчивости / А.В. Косицин, Н.В. Алексеева–Попова // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Эколого-физиологические исследования / Под ред. М.Л. Школьника, Н.В. Алексеевой-Поповой. Л.: Наука. 1983. С. 5–22.
7. Fernandes J.C. Biochemical, physiological and structural of excess copper in plants Fernandes J.C., Henriques F.S. // Bot. Rev. 1991. V. 57. P. 246–273.

8. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I—IV групп: справ. изд. / Под ред. В.А. Филова. Л.: Химия, 1988. С. 24-37.
9. Khudsar T. Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* / Khudsar T., Mahmooduzzafar N., Jqbal M., Sairam R. K. // Biol. Plant. 2004. V. 48. P. 255-260
10. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V—VIII групп: справ. изд. / Под ред. В.А. Филова. Л.: Химия, 1989. С. 79-82.
11. Mishra D. Nickel in plant growth and metabolism / Mishra D., Kar M. // Bot. Rev. 1974. V. 40. № 4. P. 395-452.
12. Розенцвет О.А. Аккумуляция меди и ее влияние на метаболизм белков, липидов и фотосинтетических пигментов в листьях *Potamogeton perfoliatus* L. / О.А. Розенцвет, С.В. Мурзаева, И.А. Гущина // Изв. Самар. НЦРАН. 2003. Т. 5. № 2. С. 305-311.
13. Крылова Е.Г. Токсичность солей никеля и меди для семян и проростков рдеста гребенчатого (*Potamogeton pectinatus* L.), частухи подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica* L.), поручейника широколистного (*Sium latifolium* L.) и ситника скученного (*Juncus conglomerates* L.) // Токсикологический вестник. 2010. № 1. С. 41-44.
14. Батова Ю.В. Влияние тяжелых металлов на прорастание семян дикорастущих злаков Казахстана / Ю.В. Батова, Г.Ф. Лайдинен, Н.М. Казнина, А.Ф. Титов // Тр. Карельского НЦ РАН. 2008.. Вып. 14. С. 3–7.
15. Лапиров А.Г. Влияние некоторых тяжелых металлов на прорастание семян и развитие проростков *Alisma plantago-aquatica* (*Alismataceae*) и *Bidens tripartita* (*Asteraceae*) // Раст. ресурсы. 2008. Вып.4. С. 98-106.
16. Ипатова В.И. Ответные реакции высших водных растений на загрязнение среды тяжелыми металлами / В.И. Ипатова, А.Г. Дмитриева // Матер. V Всерос. шк. — конф. по водным макрофитам. 2006. Рыбинск: ОАО «Рыбинский Дом печати» С. 258-261.
17. Алексеева-Попова Н.В. Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л.: Наука, 1991. 214 с.
18. Серегин И.В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения / И.В. Серегин, В.Б. Иванов // Физиол. растений. 2001. Т. 48. № 4. С. 606-630.

E.G. Krylova

SEED GERMINATION AND SEEDLING GROWTH OF *Alisma plantago-aquatica* L. IN SOLUTIONS OF HEAVY METAL SALTS

The effect of salt solutions of heavy metals on seeds germination and initial stages of growth of water plantain seedlings has been studied. Salts of cooper, nickel and chromium do not impede a normal development of seedlings at 1mg/L concentration, zinc — at 1 and 10 mg/L. Concentrations of 10 and 25 mg/L cause necrosis (Cu) and changes in coloration of cotyledon leaves associated with chlorophyll destruction (Ni, Cr and Zn (25 мг/л)) and abnormality of a growth of branch roots with photosynthesis attenuation (Cr). Higher concentrations of Cu lead to death of seedlings by the end of the experiment; Ni, Cr and Zn cease the growth after piping the seed coat by the germ sprout.

Key words: heavy metal salts, seed germination, seedling growth, *Alisma plantago-aquatica*