



УДК 581.1:581.5:633.15

© 2008

В. М. Гришко, Т. А. Демура

Інтенсивність акумуляції кадмію і нікелю та рівень їх фітотоксичності за сумісної дії на проростки кукурудзи

(Представлено академіком НАН України Д. М. Гродзинським)

Intensity of Cd and Ni accumulation at the joint action and the degree of their toxicity on maize shoots are studied. It is found that Cd and Ni are most intensively taken by the roots of shoots in the first 7 hours of stressing actions, while the metals appear in leaves only after a 7-hour-long exposition. Absorption of Cd and Ni by the roots of shoots has two-phase character. Intensity of lipid peroxidation amplifies with increase in the metals accumulation levels, and the amount of finished products of the peroxidation can be used as a primary marker of the stressing influence.

Дослідження впливу важких металів на рослинні організми привертає останнім часом все більшу увагу у зв'язку зі зростаючим забрудненням навколишнього середовища. Проведені дослідження з вивчення впливу окремого металу на той чи інший фізіологічний процес у рослин [1–5]. Однак ступінь токсичності таких небезпечних поллютантів, як кадмій та нікель, до сьогодні лишається недостатньо вивченим [6–8]. Розглядалися, зокрема, питання фітоекстракції нікелю і його акумуляція в тканинах кореня, перерозподілу в системі “корінь-листок” та впливу іонів інших металів на процеси поглинання рослинами кадмію або нікелю, а також рівень стійкості та інтенсивність стресового відгуку за їх сумісного надходження до рослин [1–3, 9]. Актуальними залишаються дослідження щодо встановлення функціональних зв'язків рослинних організмів з оточуючим середовищем, які забезпечують надійність біологічних систем рослин, їх ріст та розвиток [10, 11].

Ми ставили собі за мету дослідження ступеня токсичності, а також розподілу кадмію і нікелю у вегетативних органах рослин за їх сумісної дії.

Об'єктами досліджень були проростки кукурудзи звичайної (*Zea mays* L.) гібридів Бліц 160 МВ, Премія 190 МВ, Тон 320 ВС та Євро 401 СВ. У дослідах застосовували кадмій та нікель у вигляді розчинів сірчаноокислих солей у концентраціях 3 і 30 мг Cd^{2+} /л та 4 і 40 мг Ni^{2+} /л. Для встановлення рівня токсичного впливу як за сумісної, так і окремої дії кадмію та нікелю дводобові проростки кукурудзи зазначених гібридів витримували 48 год

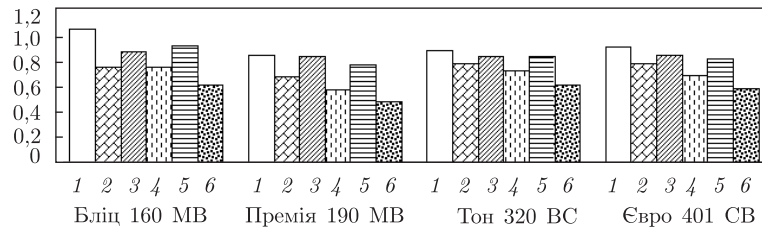


Рис. 1. Кореневі індекси (КІ) проростків різних гібридів кукурудзи у модельному досліді з важкими металами:

1 – 3 мг Cd^{2+} /л; 2 – 30 мг Cd^{2+} /л; 3 – 4 мг Ni^{2+} /л; 4 – 40 мг Ni^{2+} /л; 5 – 3 мг Cd^{2+} /л + 4 мг Ni^{2+} /л; 6 – 30 мг Cd^{2+} /л + 40 мг Ni^{2+} /л

на розчинах важких металів і потім вимірювали приріст головного кореня та розраховували кореневий індекс (КІ) за D. Wilkinson [12]. Особливості акумуляції кадмію і нікелю та інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у органах кукурудзи визначали в модельних дослідях з проростками гібриду Бліц 160 МВ, що вирощувались методом водної культури. На 10-ту добу експерименту в середовище вирощування вносили важкі метали в зазначених вище концентраціях. Вміст кадмію і нікелю в рослинному матеріалі визначали на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 (Україна) згідно із загальноприйнятими методами [13]. Показники внутрішньотканинного забруднення для кожного з металів розраховували за В.Б. Ільїним [14]. Інтенсивність розвитку пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів [15].

У ході первинного скринінгу за рівнем токсичності кадмію та нікелю на проростки встановлено, що кадмій у низькій концентрації призводив до гальмування росту кореневої системи проростків усіх гібридів у середньому на 15%. При внесенні в середовище вирощування нікелю в низькій концентрації довжина головного кореня проростків знижувалась меншою мірою: значення кореневого індексу становили від 0,85 до 0,92, а у проростків гібриду Бліц 160 МВ такий вміст нікелю не викликав гальмування росту. При вирощуванні рослин кукурудзи на середовищі, що містило високу концентрацію кадмію, найістотніше пригнічення росту відмічено для проростків гібриду Премія 190 МВ, що виявлялось у зниженні приросту головного кореня на 42% порівняно з контролем. Разом з цим проросткам гібриду Бліц 160 МВ була притаманна найбільша толерантність до дії сполук кадмію в зазначеній концентрації. Як і за дії кадмію, внесення високої концентрації нікелю також призводило до зменшення довжини головного кореня у проростків усіх досліджених гібридів кукурудзи. Але за умов забруднення нікелем розбіжність між гібридами у прояві негативного впливу останнього виявилась не досить значною, що свідчить про більшу токсичність кадмію у порівнянні з нікелем. Отримані нами дані добре узгоджуються з даними літератури [3, 5, 8], які свідчать про більшу токсичність кадмію в порівнянні з нікелем за їх окремої дії. Для гібриду Премія 190 МВ зафіксоване найістотніше пригнічення росту головного кореня (на 32%) і, відповідно, найнижчий ступінь толерантності. Разом з цим зменшення довжини головного кореня у проростків інших гібридів не перевищувало 24%.

Найбільш стійкими до стресу, викликаного сумісною дією металів, були проростки кукурудзи гібриду Бліц 160 МВ (рис. 1). За низької концентрації токсинів інгібування росту кореневої системи у проростків цього гібриду не спостерігалось. Проте, сумісний вплив токсикантів у високій концентрації призводив до гальмування росту коренів на 38%. Найістотніше інгібування росту кореневої системи зафіксоване для проростків гібриду Пре-

мія 190 МВ, про що свідчить зниження кореневого індексу до 0,48. Гібриди кукурудзи Євро 401 СВ та Тон 320 ВС показали помірну чутливість до стресового впливу і близькі величини корневих індексів, тому були віднесені до середніх за стійкістю до дії досліджуваних металів гібридів. Таким чином, за результатами скринінгу для подальшого дослідження був відібраний найбільш стійкий до сумісної дії важких металів гібрид кукурудзи Бліц 160 МВ.

Враховуючи те, що процеси поглинання рослинами кадмію та нікелю за їх окремої дії добре вивчені [1–5, 7], ми зосередились на з'ясуванні особливостей надходження до рослин та перерозподілу в системі “корінь-листок” зазначених елементів за їх сумісної дії.

Нааявні експериментальні дані (табл. 1) дозволяють констатувати, що нікель та кадмій швидко надходять в тканини коренів проростків кукурудзи. Так, вже через 1 год вирощування рослин на середовищі, що містило суміш токсикантів у низьких концентраціях, обидва метали активно поглиналися кореневою системою. Це підтверджується підвищенням в 1,7 раза в тканинах кореня вмісту нікелю і майже втричі вмісту кадмію порівняно з контрольними проростками. При експозиції на середовищі з високим вмістом нікелю та низьким кадмію концентрація обох токсикантів збільшилась майже вдвічі порівняно з попереднім варіантом. В аналогічному варіанті з переважанням кадмію вміст останнього зростав у 9,6 раза, тоді як нікелю — в 3,3 раза відповідно до контролю. Отримані результати підтверджуються також розрахованими індексами внутрішньотканинного забруднення, які за низької концентрації для кадмію становили 2,98 і 5,82, а для нікелю — 1,73 та 3,29. При збільшенні експозиції проростків на розчинах важких металів у низькій концентрації до 7 год вміст кадмію перевищував контрольні значення в 5–7 разів, тоді як за високої концентрації — у 10–15 разів. Разом з цим у варіантах дослідів з низькою концентрацією нікелю на 7-му год стресового впливу не встановлено істотної інтенсифікації поглинання нікелю тканинами коренів порівняно з першою годиною вирощування (1,9, 3,58 і 1,73, 3,29 відповідно), тоді як за високої концентрації відповідні показники зростали на 40–60% (див. табл. 1).

Подальше збільшення тривалості дії важких металів до 12 год не призводило до підвищення рівнів абсорбції токсикантів кореневою системою проростків кукурудзи, про що свідчить відсутність статистично достовірної різниці відповідних значень вмісту обох металів після 7 та 12 год експозиції на розчинах кадмію та нікелю і майже однакові значення показників внутрішньотканинного забруднення: 5,4–15,3 та 5,3–14,6 для кадмію і 1,9–8,1 та 2,0–7,5 для нікелю на 7-му і 12-ту год стресу відповідно. При підвищенні тривалості інтоксикації до 24 год спостерігалась аналогічна тенденція уповільнення процесів поглинання токсикантів кореневою системою проростків кукурудзи. Тобто після 7 год стресової дії процес поглинання виходив на плато і наступала лінійна фаза, яка характеризується постійною невисокою швидкістю абсорбції металів.

Необхідно зазначити, що у всіх варіантах дослідів показники внутрішньотканинного забруднення кореня для кадмію дещо перевищували відповідні показники для нікелю. Найбільш чітко виявлена тенденція простежувалася після 7 год стресової дії. Так, у варіанті з низьким рівнем комплексного забруднення значення показників внутрішньотканинного забруднення кадмієм перевищували аналогічні для нікелю в 2,9 раза. Це пояснюється тим, що для нікелю не існує фізіологічних бар'єрів, таких як ендодерма на тканинному та плазмолема на клітинному рівнях, які перешкоджають транспорту іонів у надземну частину [1]. Тому, імовірно, нікель транспортується до надземної частини, тоді як кадмій може більшою мірою концентруватись саме в коренях проростків.

Таблиця 1. Вміст кадмію та нікелю у вегетативних органах 10-добових проростків кукурудзи, мкг/г сухої речовини

Варіант	Корінь				Лист			
	Кадмій		Нікель		Кадмій		Нікель	
	$M \pm m$	Z_k^p	$M \pm m$	Z_k^p	$M \pm m$	Z_l^p	$M \pm m$	Z_l^p
1 год								
Контроль	0,58 ± 0,044	—	8,73 ± 1,140	—	0,15 ± 0,021	—	1,04 ± 0,037	—
3 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	1,72 ± 0,074*	2,98	15,10 ± 1,473*	1,73	0,16 ± 0,005	1,04	1,16 ± 0,129	1,12
3 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	3,36 ± 0,045*	5,82	37,94 ± 3,499*	4,35	0,18 ± 0,011	1,13	1,16 ± 0,069	1,12
30 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	5,56 ± 0,477*	9,62	28,73 ± 3,226*	3,29	0,18 ± 0,024	1,14	1,06 ± 0,039	1,03
30 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	7,82 ± 0,548*	13,54	43,92 ± 3,71*	5,03	0,17 ± 0,039	1,07	1,13 ± 0,036	1,09
7 год								
Контроль	0,57 ± 0,018	—	8,43 ± 0,904	—	0,14 ± 0,010	—	1,00 ± 0,053	—
3 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	3,10 ± 0,077*	5,43	16,04 ± 1,985*	1,90	0,16 ± 0,012	1,16	1,06 ± 0,118	1,06
3 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	3,91 ± 0,008*	6,86	52,43 ± 2,100*	6,22	0,16 ± 0,013	1,15	1,64 ± 0,088*	1,64
30 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	5,76 ± 0,569*	10,11	30,17 ± 2,853*	3,58	0,21 ± 0,019*	1,49	1,21 ± 0,019*	1,22
30 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	8,70 ± 1,441*	15,28	58,56 ± 3,98*	8,13	0,27 ± 0,009*	1,93	1,96 ± 0,182*	1,96
12 год								
Контроль	0,59 ± 0,045	—	8,52 ± 0,707	—	0,16 ± 0,022	—	1,01 ± 0,053	—
3 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	3,11 ± 0,128*	5,25	17,30 ± 2,244*	2,03	0,17 ± 0,011	1,07	1,34 ± 0,122*	1,32
3 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	4,03 ± 0,432*	6,80	57,19 ± 4,186*	6,71	0,23 ± 0,018*	1,43	2,01 ± 0,226*	1,99
30 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	6,16 ± 0,311*	10,40	31,20 ± 3,336*	3,65	0,43 ± 0,0045*	2,64	1,92 ± 0,183*	1,90
30 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	8,64 ± 0,697*	14,59	63,98 ± 14,268*	7,51	0,45 ± 0,035*	2,81	2,13 ± 0,024*	2,11
24 год								
Контроль	0,67 ± 0,003	—	8,47 ± 0,899	—	0,17 ± 0,039	—	1,04 ± 0,050	—
3 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	3,52 ± 0,050*	5,24	21,24 ± 0,603*	2,5	0,27 ± 0,025*	1,58	1,68 ± 0,079*	1,63
3 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	4,08 ± 0,705*	6,07	59,52 ± 3,045*	7,03	0,28 ± 0,032*	1,62	2,20 ± 0,094*	2,13
30 мг Cd ²⁺ /л + 4 мг Ni ²⁺ /л	6,58 ± 0,499*	9,78	43,23 ± 3,582*	5,10	0,47 ± 0,007*	2,76	2,00 ± 0,089*	1,93
30 мг Cd ²⁺ /л + 40 мг Ni ²⁺ /л	9,34 ± 1,127*	13,89	68,85 ± 6,075*	8,13	0,50 ± 0,037*	2,89	2,35 ± 0,275*	2,27

Примітка. Z_k^p та Z_l^p — показники внутрішньотканинного забруднення проростків.

* Статистично достовірна відмінність від контролю при $p < 0,05$.

Дослідження розподілу металів у системі “корінь-листок” за умов інтоксикації сполуками кадмію та нікелю засвідчили значно вищу їх акумуляцію в тканинах кореня порівняно з асиміляційним апаратом. Це добре узгоджується з переважаючою на сьогодні точкою зору про обмежене надходження важких металів до пагонів в результаті бар’єрної ролі ендодерми кореня, пояски Каспарі якої перешкоджають їх надходженню в центральний циліндр. Крім того, добре відомо, що для кукурудзи характерна більш висока здатність саме коренів зв’язувати іони важких металів [2, 4, 8].

Аналіз результатів модельних експериментів показав, що на 1-шу год після внесення суміші сполук кадмію та нікелю в середовище вирощування вміст цих металів у листках проростків не перевищував контрольні значення (див. табл. 1). На 7-му год стресового впливу у варіантах з низькою концентрацією кадмію накопичення останнього також не зафіксовано. Однак за сумісної дії кадмію у високій концентрації та нікелю у низькій процеси поглинання токсикантів інтенсифікувалися, про що свідчить перевищення вмісту кадмію в листках у 1,5 раза порівняно з контролем та майже вдвічі за комплексного впливу токсикантів у високій концентрації. Поряд з цим вміст нікелю не перевищував відповідний у контрольних проростків рівень лише при використанні металів у низькій концентрації. Сумісна дія металів з високою концентрацією кадмію та низькою нікелю призводила до зростання вмісту останнього в листках проростків на 21% порівняно з контролем, тоді як при експозиції проростків кукурудзи на середовищі з переважанням нікелю цей показник перевищував попередні значення на 43%. Як і слід було очікувати, рівень акумуляції нікелю досягав найбільшої інтенсивності у варіанті досліду при внесенні суміші сполук металів у високій концентрації — його вміст у листках зростає майже вдвічі відносно контрольних рослин.

На 12-ту год експерименту за сумісної дії металів у низькій концентрації вміст кадмію в листках проростків кукурудзи дорівнював такому в контролі, тоді як нікелю був на 30% вищий. Разом з цим у листках проростків з високим вмістом хоча б одного з металів спостерігалася тенденція уповільнення темпів акумуляції нікелю: значення показника внутрішньотканинного забруднення змінювалося менш ніж на 0,7, а абсолютні значення вмісту статистично достовірно не відрізнялися у переважній більшості варіантів від таких при 7-год експозиції. Однак надходження кадмію в листки за ксилемним транспортом в зазначених вище варіантах та його акумуляція зростала в 1,7–2 рази.

При збільшенні тривалості стресового впливу до 24 год інтенсивність внутрішньотканинного забруднення для нікелю лишалася на тому ж рівні, а за високої концентрації кадмію темпи акумуляції також призупинялися (табл. 1).

Таким чином, вищевикладене дає змогу констатувати двофазний характер поглинання кадмію та нікелю. Протягом перших 7 год відбувається швидке поглинання токсикантів, що, згідно з літературними даними, відповідає насиченню металами судин ксилеми [2, 4]. Далі настає лінійна фаза, яка характеризується постійною швидкістю накопичення кадмію та нікелю.

Однією з перших реакцій організму на дію токсичних сполук або іншу стресову ситуацію є збільшення інтенсивності процесів ПОЛ у клітинних мембранних структурах. У результаті модельних дослідів встановлено, що іони кадмію та нікелю за умов сумісної дії призводять до інтенсифікації процесів ПОЛ у вегетативних органах проростків кукурудзи. Вже після 1 год дії кадмію та нікелю в низькій концентрації вміст ТБК-активних сполук у коренях зростає на 19% порівняно з контрольними проростками, тоді як у листках не змінювався (рис. 2). Отримані дані добре узгоджуються з вищенаведеними результатами переважної

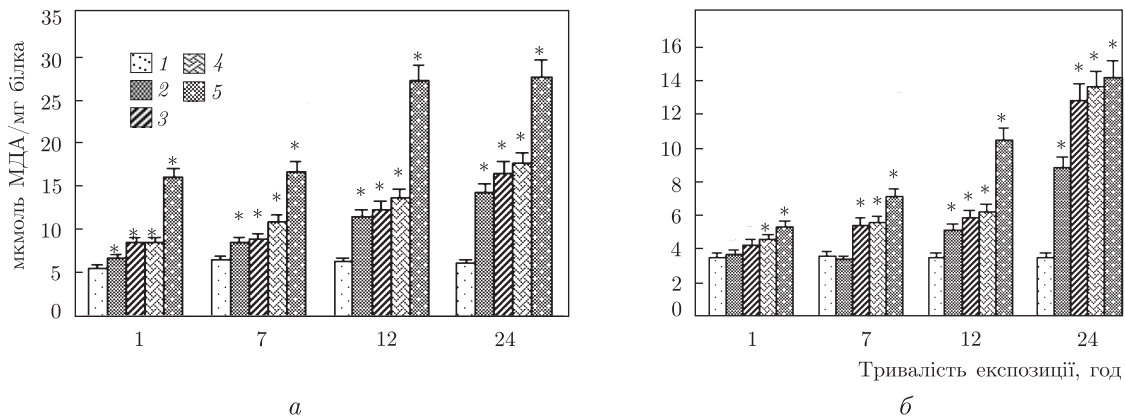


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів у коренях (а) та листках (б) 10-добових проростків кукурудзи: 1 — контроль; 2 — 3 мг Cd²⁺/л + 4 мг Ni²⁺/л; 3 — 3 мг Cd²⁺/л + 40 мг Ni²⁺/л; 4 — 30 мг Cd²⁺/л + 4 мг Ni²⁺/л; 5 — 30 мг Cd²⁺/л + 40 мг Ni²⁺/л; * — статистично достовірна різниця відносно контролю при $p < 0,05$

інтенсифікації процесів поглинання та акумуляції токсикантів у коренях проростків. Разом з цим у варіантах дослідів, коли хоча б один з полютантів вносився до середовища вирощування у високій концентрації, процеси пероксидації відбувались більш інтенсивно. Так, у коренях вміст ТБК-активних продуктів підвищувався в середньому більш ніж на 50%, тоді як у листках — більш ніж на 20% порівняно з контролем. Найбільш істотне зростання продуктів пероксидації на 1-шу год спостерігалось у проростків кукурудзи за сумісної дії полютантів у високій концентрації (в 1,5 та 3 рази в листках та коренях відповідно).

При подовженні тривалості дії суміші кадмію та нікелю до 7 год відзначена загальна тенденція до поступового збільшення рівня ТБК-активних продуктів як у коренях, так і в листках проростків кукурудзи. Аналогічне збільшення рівня малонового діальдегіду у вегетативних органах проростків зафіксоване і після 12 год експозиції. Максимальне підвищення рівня продуктів ПОЛ на 12-ту год комплексної інтоксикації проростків металами встановлено у варіанті за дії високої концентрації забруднювачів. Так, кількість малонового діальдегіду у вегетативних органах збільшувалась майже вдвічі порівняно з першою годиною (див. рис. 2).

За максимального рівня акумуляції кадмію та нікелю проростками кукурудзи на 24-ту год експозиції відбувалося найбільше посилення окиснювальних процесів ліпідів. Вищенаведене підтверджується підвищенням вмісту малонового діальдегіду в тканинах листків у 1,3–2,2 рази порівняно з 12-год дією токсикантів, що перевищує контрольні значення в 2,5–4 рази. Загальна тенденція зростання накопичення кінцевих продуктів ПОЛ характерна і для коренів проростків, причому в них утворюється ще більша кількість ТБК-активних продуктів, ніж у листках (у 1,3–1,9 рази). Тобто з підвищенням вмісту токсичних сполук у вегетативних органах зростає інтенсивність стресового відгуку рослинного організму.

Таким чином, аналіз експериментальних даних дозволяє стверджувати, що кадмій швидше, ніж нікель, за умов сумісної дії поглинається і акумулюється в кореневій системі проростків, а потім транспортується до листків. Найбільш інтенсивне поглинання токсикантів коренями відбувається в перші 7 год стресового впливу, тоді як у листках проростків — лише на 7-му год експозиції. Підсумовуючи результати досліджень, зазначимо, що поглинання кадмію і нікелю є функцією часу і має двофазний характер. Первинним маркером інтенси-

фікації поглинання рослинами кадмію та нікелю можна вважати кількість ТБК-активних продуктів. Особливості акумуляції токсикантів у вегетативних органах кукурудзи добре узгоджуються з підвищенням рівня продуктів ПОЛ і обумовлюють гальмування росту та розвитку її кореневої системи.

Дослідження виконано в рамках гранту НАН України конкурсу проектів науково-дослідних робіт молодих учених та проекту за цільовою програмою НАН України "Новітні медико-біологічні проблеми та навколишнє середовище людини".

1. *Серегин И. В., Кожевникова А. Д., Казюмина Е. М., Иванов В. Б.* Токсическое действие и распределение никеля в корнях кукурузы // Физиология растений. – 2003. – 50, № 5. – С. 793–800.
2. *Yang X. E., Baligar V. C., Foster J. S., Martens D. C.* Accumulation and transport of nickel in relation to organic acids in ryegrass and maize grown with different nickel levels // Plant Soil. – 1997. – 196. – P. 271–276.
3. *Гришко В. М., Сициков Д. В.* Вплив кадмію на функціонування глутатіонзалежної антиоксидантної системи у гороху і сої // Доп. НАН України. – 2003. – № 11. – С. 171–178.
4. *Мельничук Ю. П.* Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. – Киев: Наук. думка, 1990. – 148 с.
5. *Сициков Д. В., Гришко В. М.* Накопичення нікелю вегетативними органами проростків гороху та кукурудзи // Доп. НАН України. – 2006. – № 1. – С. 167–172.
6. *Степанок В. В.* Влияние сочетания соединений тяжелых металлов на урожай сельскохозяйственных культур и поступление тяжелых металлов в растения // Агротехника. – 2000. – № 1. – С. 74–80.
7. *Потатужева Ю. А., Прищеп Е. Г., Сидоренкова Н. К., Виндкер Т. А.* Влияние карбоната кадмия на урожай сельскохозяйственных культур, подвижность кадмия в почве и накопление растениями // Агротехника. – 2005. – № 8. – С. 50–57.
8. *Kabata-Pendias A., Pendias H.* Trace elements in soils and plants. – Boca Raton: CRC Press, 2001. – 432 p.
9. *Гладков Е. А.* Влияние комплексного взаимодействия тяжелых металлов на растения мегаполисов // Экология. – 2007. – № 1. – С. 71–74.
10. *Кордюм Е. Л., Сытник К. М., Бараненко В. В. и др.* Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – Киев: Наук. думка, 2003. – 278 с.
11. *Гродзинский Д. М.* Надежность растительных систем. – Киев: Наук. думка, 1983. – 368 с.
12. *Wilkinson D. A.* The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth // New Phytol. – 1978. – 80, No 3. – P. 623–633.
13. *Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства.* – Москва, 1989. – 62 с.
14. *Ильин В. Б., Степанова М. Д.* Относительные показатели загрязнения в системе почва-растение // Почвоведение. – 1979. – № 11. – С. 61–67.
15. *Камышиников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Т. 2. – Минск: Беларусь, 2000. – С. 207.

Криворізький ботанічний сад НАН України

Надійшло до редакції 12.11.2007