ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

НАКОПЛЕНИЕ ЦИНКА И КАДМИЯ В РАСТЕНИЯХ ЯЧМЕНЯ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ КЛЕТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Товстик Е.В.^{1*}, Попова А.А.¹, Шуплецова О.Н.²

¹ Вятский государственный университет, г. Киров, Россия

² Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока
им. Н.В. Рудницкого, г. Киров, Россия

*E-mail: tovstik@inbox.ru

Изучали накопление цинка и кадмия растениями ячменя линии 999-93 и ее регенерантных форм, полученных методом клеточной селекции. Оценку проводили в условиях недостатка цинка и избытка кадмия в почве. Действующие дозы валовых и подвижных форм цинка составили соответственно 48–57 и 1,08–2,4; кадмия 2,1–3,8 и 1,7–3,0 мг/кг почвы. Выявлены более высокая почвенная подвижность и интенсивность поглощения растениями кадмия по сравнению с цинком. Содержание кадмия и цинка в структурных компонентах растений убывает в ряду: корни → соломина → зерно. Накопление цинка и кадмия в зерне ячменя всех вариантов не превышает ПДК. В наименьшей степени способность к концентрированию тяжелых металлов выражена у регенерантной линии ячменя, индуцированной исходным генотипом в каллусной культуре на селективной среде с Cd^{2+} . Результаты исследования подтверждают целесообразность использования в растениеводстве генотипов ячменя, полученных путем клеточной селекции.

Ключевые слова: ячмень, регенерант, цинк, кадмий, коэффициент подвижности, коэффициент биологического поглощения, биогеохимическая активность растительного вида, коэффициент биогеохимической подвижности

ACCUMULATION OF ZINC AND CADMIUM IN BARLEY PLANTS OBTAINED BY THE CELLULAR SELECTION METHOD

Tovstik E.V.^{1*}, Popova A.A.¹, Shupletsova O.N.²

¹ Vyatka State University, Kirov, Russia

² Federal Scientific Agricultural Center of the North-East
named after N.V. Rudnitsky, Kirov, Russia

*E-mail: tovstik@inbox.ru

The accumulation of zinc and cadmium by barley plants of the line 999-93 and its regenerant forms obtained by cell selection was studied. The assessment was carried out under conditions of a lack of zinc and an excess of cadmium in the soil. The current doses of gross and mobile forms of zinc were 48–57 and 1.08–2.4; cadmium 2.1–3.8 and 1.7–3.0 mg / kg of soil, respectively. Higher soil mobility and the absorption rate of cadmium by plants compared to zinc were revealed. The cadmium and zinc content in the structural components of plants decreases in the order: roots → straw → grain. The accumulation of zinc and cadmium in barley grain of all options does not exceed the MAC. The ability to concentrate heavy metals is least pronounced in the regenerant line of barley induced by the original genotype in callus culture on a selective medium with Cd^{2+} . The results of the study confirm the feasibility of using barley genotypes obtained by cell selection in crop production.

Keywords: barley, regenerant, zinc, cadmium, mobility coefficient, biological absorption coefficient, plant species biogeochemical activity, biogeochemical mobility coefficient

Поступила в редакцию: 11.06.2020

DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-2-292-297](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-292-297)

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что растения, произрастающие на почвах с повышенным содержанием тяжелых металлов (ТМ), способны без каких-либо признаков отравления и патологических изменений накапливать опасные для животных и человека концентрации [Гладков, 2010; Манторова, 2010].

Одним из наиболее широко распространенных и высокотоксичных ТМ является кадмий. Цинк, напротив, является важнейшим микроэлементом для всех живых организмов, однако в повышенных концентрациях он может оказывать на них токсическое действие

[Малева и др., 2018]. Кадмий по химическим свойствам близок к цинку, но отличается от него большей подвижностью в кислых средах. Содержание кадмия в почве определяется теми же факторами почвообразования, что и содержание цинка [Побилат, Волошин, 2018]. Изучение взаимного действия кадмия и цинка на физиолого-биохимические параметры растений представляет особый интерес, так как кадмий способен замещать цинк в активных центрах металлсодержащих ферментов, приводя к резкому нарушению метаболических процессов [Aravind, Prasad, 2005; Aravind, et al., 2009; Nazar et al., 2012].

Целью работы было исследование транслокации цинка и кадмия в системе «почва–растение» на примере ячменя ярового (*Hordeum vulgare* L.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили растения ячменя линии 999-93 и ее регенерантные формы, полученные в результате клеточной селекции: 1) регенерантная линия RA_{Al}, индуцированная исходным генотипом в каллусной культуре на селективной среде с 40 мг/л Al³⁺; 2) регенерантная линия RA_{ПЭГ}, индуцированная исходным генотипом в каллусной культуре на селективной среде с 15% осмотика (полиэтиленгликоль – ПЭГ); 3) регенерантная линия RA_{Cd}, индуцированная исходным генотипом в каллусной культуре на селективной среде с 15 мг/л Cd²⁺ [Шуплецова, Широких, 2015; Широких и др., 2018]. Схема опыта включала почвенный фон с кадмием 5 мг/кг Cd²⁺. Провокационный фон создавали путем внесения в почву Cd(CH₃COO)₂ с последующим ее регулярным увлажнением (до 80% от полевой влагоемкости) и перемешиванием в течение месяца для закрепления кадмия в почвенном поглощающем комплексе. Семена исходного и регенерантного генотипа высевали в почву по 3 растения на сосуд, 3 сосуда в каждом варианте. Растения выращивали в естественных условиях в вегетационных сосудах, наполненных дерново-подзолистой почвой в равных объемах. По мере созревания растения извлекали из почвы, отмывали корни, сушили и делили на структурные компоненты (корни, соломина, зерно). Предварительную подготовку растительных проб осуществляли путем сухой минерализации, затем определяли в них валовое содержание цинка и кадмия методом инверсионной вольтамперометрии [Сборник методик ... , 2004].

Содержание подвижных и валовых форм цинка и кадмия в пробах почвы, отобранных, в области ризосферы корней, проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии на приборе «СПЕКТР-5-4». Для этого воздушно-сухие почвенные образцы предварительно экстрагировали аммонийно-ацетатным буфером (рН = 4,8) и азотной кислотой при кипячении соответственно [Кузнецов и др., 1992].

Основываясь на данных о том, что подвижные формы элементов формируют резерв питания растений, производили оценку степени подвижности цинка и кадмия в почве провокационного фона. Расчет коэффициента подвижности (КП) проводили по следующей формуле [Перельман, 1999]:

$$КП = \frac{С_{пф}}{С_{вф}} \cdot 100\%,$$

где С_{пф} – содержание подвижной формы металла в почве, мг/кг; С_{вф} – содержание валовой формы металла в почве, мг/кг.

Для характеристики интенсивности поглощения тяжелых металлов растениями рассчитывали коэффициент биологического поглощения (КБП) согласно формуле:

$$КБП = \frac{C_z}{C_{вф}},$$

где C_z – содержание ТМ в золе растений; $C_{вф}$ – валовое содержание ТМ в корнеобитаемом слое почвы.

По интенсивности биологического поглощения все элементы делили на группы: 1 – элементы энергичного накопления ($КБП = 10-100$); 2 – сильного накопления ($КБП = 1-10$); 3 – слабого накопления и среднего захвата ($КБП = 0,1-1$); 4 – элементы слабого и очень слабого захвата ($КБП = 0,001-0,1$).

На основе значений КБП для количественного выражения общей способности растений к концентрированию ТМ рассчитывали биогеохимическую активность растительного вида (БХА):

$$БХА = \sum КПБ$$

Для установления специфики растений в поглощении цинка и кадмия рассчитывали коэффициент биогеохимической подвижности (КБХП) (индекс аккумуляции – количественный показатель перехода химических элементов из почвы в растение) по формуле:

$$КБХП = \frac{C_p}{C_{пф}},$$

где C_p – содержание ТМ в воздушно-сухой массе органов растения; $C_{пф}$ – содержание подвижных форм ТМ в почве.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

В результате исследования было установлено, что содержание валовых форм цинка в почве варьирует от 48 до 57 мг/кг и не превышает ПДК; кадмия – от 2,1 до 3,8 мг/кг и достигает уровня ПДК.

Как известно, валовое содержание тяжелых металлов характеризует общую загрязненность почвы, а подвижные формы определяют доступность элементов для растений. Содержание подвижных форм цинка в пробах почвы варьировало от 1,08 до 2,40 мг/кг и не превышало ПДК, кадмия – от 1,7 до 3,0 мг/кг и превышало уровень ПДК (табл. 1).

Таблица 1. Содержание валовых и подвижных форм цинка и кадмия в почве в области ризосферы растений

Вариант опыта		Концентрация металлов, мг/кг	
№	Генотип растений	Zn	Cd
1	Исходный генотип	$1,08 \pm 0,36$ 57 ± 19	$1,9 \pm 0,5$ $2,4 \pm 0,6$
2	RA _{Al}	$1,6 \pm 0,5$ 48 ± 16	$1,7 \pm 0,4$ $2,1 \pm 0,5$
3	RA _{ПЭГ}	$2,2 \pm 0,7$ 52 ± 17	$3,0 \pm 0,8$ $3,2 \pm 0,8$
4	RA _{Cd}	$2,4 \pm 0,8$ 49 ± 16	$2,2 \pm 0,6$ $3,8 \pm 0,9$
ПДК, мг/кг		$23,0$ $100,0$	$0,2$ $3,0$

Примечание: над чертой приведены данные по содержанию подвижных форм, под чертой – валовых форм ТМ в почве.

Содержание валовых форм цинка в почве было на один порядок выше, чем кадмия.

Оценка подвижности тяжелых металлов в почве, позволила установить, что коэффициенты подвижности цинка варьировали в пределах сотых, а кадмия – десятых. Цинк при этом имел меньшую подвижность, чем кадмий (табл. 2).

Таблица 2. Подвижность тяжелых металлов в почвенных пробах

Вариант опыта		Коэффициенты подвижности	
№	Генотип растений	Zn	Cd
1	Исходный генотип	0,019	0,78
2	RA _{Al}	0,034	0,79
3	RA _{ПЭГ}	0,042	0,95
4	RA _{Cd}	0,050	0,58

Наименьшая подвижность как цинка, так и кадмия в почве была отмечена у 1 варианта.

Содержание цинка в корнях ячменя варьировало от 1,9 до 22, в соломине от 0,22 до 21, в зерне от 6,13 до 12 мг/кг (табл. 3).

Таблица 3. Накопление тяжелых металлов в различных тканях растений

Вариант опыта		Содержание ТМ, мг/кг воздушно-сухой массы	
№	Генотип растений	Zn	Cd
Корни			
1	Исходный генотип	22 ± 9	5,7 ± 2,2
2	RA _{Al}	8,5 ± 3,3	6,6 ± 2,6
3	RA _{ПЭГ}	3,3 ± 1,3	9,5 ± 3,7
4	RA _{Cd}	1,9 ± 0,8	5,5 ± 2,1
Соломина			
1	Исходный генотип	3,5 ± 1,3	0,45 ± 0,18
2	RA _{Al}	21 ± 8	0,56 ± 0,22
3	RA _{ПЭГ}	3,9 ± 1,5	0,68 ± 0,26
4	RA _{Cd}	0,22 ± 0,08	0,35 ± 0,14
Зерно			
1	Исходный генотип	12 ± 4	0,054 ± 0,021
2	RA _{Al}	9,2 ± 3,6	0,036 ± 0,014
3	RA _{ПЭГ}	9,0 ± 3,5	0,075 ± 0,029
4	RA _{Cd}	6,1 ± 2,4	0,041 ± 0,016

Примечание: ПДК в зерне Zn – 50,0, Cd – 0,1 мг/кг.

Содержание кадмия в корнях растений варьировало от 5,5 до 9,5 мг/кг, в соломине от 0,35 до 0,68 мг/кг, в зерне от 0,036 до 0,075 мг/кг. Достоверных отличий в накоплении кадмия в тканях растений ячменя у разных генотипов не выявлено.

Во всех образцах ячменя содержание цинка и кадмия в зерне не превышало уровня ПДК.

По данным литературы известно, что основным источником формирования микроэлементного состава растений считается запас обменных форм ТМ в почве. Поэтому для оценки интенсивности поглощения ТМ растениями ячменя был выбран коэффициент биогеохимического поглощения (КБП). Расчет значений КБП металлов для различных

вариантов показал, что во всех пробах почвы Cd являлся элементом сильного накопления ($КБП > 1$) (табл. 4).

Таблица 4. Коэффициент биологического поглощения ТМ и биогеохимической активности у растений исследуемых генотипов

Вариант опыта		КБП		БХА
№	Генотип растений	Zn	Cd	
1	Исходный генотип	0,392	2,365	2,757
2	RA _{Al}	0,178	3,082	3,260
3	RA _{ПЭГ}	0,064	2,991	3,055
4	RA _{Cd}	0,040	1,427	1,466

Для вариантов 1 и 2 отмечали, что цинк относился к элементам слабого накопления и сильного захвата ($КБП > 0,1$), а для вариантов 3 и 4 – к элементам слабого захвата ($КБП < 0,1$).

Концентрация подвижных форм цинка в почве, предназначенной для сельскохозяйственных угодий, должна быть более 4 мг/кг. В наших исследованиях концентрация цинка в пробах почвы варьировала от 1,08 до 2,4 мг/кг, что в 2-3 раза ниже рекомендуемой нормы. Накопление цинка в растениях кормовых сортов ячменя, в среднем, составляет 26 мг/кг для зерна и 100 мг/кг для соломины. В исследуемых растительных образцах максимальное количество цинка составило 12 мг/кг в зерне и 21 мг/кг в солоmine, что значительно меньше необходимого уровня. Активная аккумуляция Cd в растительных тканях, вероятно, объясняется попыткой растений ячменя компенсировать недостаток Zn, заменив его аналогом (Cd).

Расчет значений коэффициента БХА, показал, что наибольшая способность к концентрированию ТМ выражена у растений ячменя 1 варианта, а наименьшая – у 4-го.

Наибольшие расчетные значения индекса аккумуляции Zn фиксировали для соломины 2 варианта и зерна 1 варианта, а наименьшие – для соломины и зерна 4 варианта. Одинаковые значения коэффициента биогеохимической подвижности кадмия отмечали как для соломины, так и зерна (табл. 5).

Таблица 5. Коэффициент биогеохимической подвижности ТМ в вегетативных и репродуктивных органах растений

Вариант опыта		Zn	Cd
№	Генотип растений		
Соломина			
1	Исходный генотип	3,214	0,240
2	RA _{Al}	13,245	0,331
3	RA _{ПЭГ}	1,766	0,225
4	RA _{Cd}	0,089	0,156
Зерно			
1	Исходный генотип	11,307	0,029
2	RA _{Al}	5,703	0,021
3	RA _{ПЭГ}	4,113	0,025
4	RA _{Cd}	2,526	0,018

Таким образом, регенерантные линии ячменя, полученные в культуре *in vitro* на селективных средах с Cd, отличаются от исходного генотипа (линия 999-93) и регенерантных линий, индуцированных в процессе клеточной селекции другой направленности. Эти изменения заключаются в снижении аккумуляции токсичного металла во всех тканях растения и, что особенно важно, в репродуктивных органах. Полученные результаты позволяют говорить о повышении безопасности для человека использования зерновой продукции растений ячменя этих регенерантных генотипов при их выращивании на почвенных фонах с Cd.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aravind P., Prasad M.N.V. Cadmium-zinc interactions in hydroponic system using *Ceratophyllum demersum*: adaptive plant ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology // Braz. J. Plant Physiol. 2005. V. 17 (1). P. 3–20. DOI: [10.1590/S1677-04202005000100002](https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100002)
2. Aravind P., Prasad M.N.V., Malec P., et al. Zinc protects *Ceratophyllum demersum* L. (free-floating hydrophyte) against reactive oxygen species induced by cadmium // J. Trace Elem. Med. Biol. 2009. V. 23 (1). P. 50–60. DOI: [10.1016/j.jtemb.2008.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2008.10.002)
3. Nazar R., Igbal N., Masood A., et al. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation // American Journal of Plant Sciences. 2012. V. 3 (10). P. 1476–1489. DOI: [10.4236/ajps.2012.310178](https://doi.org/10.4236/ajps.2012.310178)
4. Гладков Е.А. Оценка комплексной фитотоксичности тяжелых металлов и определение ориентировочно допустимых концентраций для цинка и меди // Сельскохозяйственная биология. 2010. № 6. С. 94–99.
5. Кузнецов А.В., Фесюн А.П., Самохвалов С.Г., Махонько Э.П. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. / 2-е издание, переработанное и дополненное. М.: ЦИНАО, 1992. С. 13–24.
6. Малева М.Г., Чукина Н.В., Борисова Г.Г., и др. Ответные реакции *Elodea canadensis* на действие ионов кадмия и цинка // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2018. № 3 (127). С. 111–118. DOI: [10.15393/uchz.art.2018.135](https://doi.org/10.15393/uchz.art.2018.135)
7. Манторова Г.Ф. Тяжелые металлы в почве и растительной продукции в условиях техногенного загрязнения // XXI АГРО. 2010. № 1–3. С. 52–54.
8. Перельман А.И. Геохимия ландшафта. М.: Высшая школа, 1999. 62 с.
9. Побилат А.Е., Волошин Е.И. Кадмий в почвах и растениях Средней Сибири // Микроэлементы в медицине. 2017. № 18 (3). С. 36–41. DOI: [10.19112/2413-6174-2017-18-3-36-41](https://doi.org/10.19112/2413-6174-2017-18-3-36-41)
10. Сборник методик измерений массовой концентрации ионов меди, свинца, кадмия, цинка, висмута, марганца, никеля и кобальта методом вольтамперометрии на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА». М.: ООО «Эконикс-Эксперт», 2004. 61 с.
11. Широких И.Г., Шуплецова О.Н., Товстик Е.В., и др. Комплексная оценка растений ячменя, полученных путем клеточной селекции на устойчивость к кадмию // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2018. Т. 65 (4). С. 19–29. DOI: [10.30766/2072-9081.2018.65.4.19-29](https://doi.org/10.30766/2072-9081.2018.65.4.19-29)
12. Шуплецова О.Н., Широких И.Г. Повышение устойчивости ячменя к токсичности металлов и осмотическому стрессу путем клеточной селекции // Зерновое хозяйство России. 2015. № 1 (37). С. 57–62.