

УДК 504.06:574.24

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСТВОРОВ НИКЕЛЯ В ПРИСУТСТВИИ МАГНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

© 2016 И.В. Мосендз¹, Д.А. Петрашова², С.В. Дрогобужская¹, И.П. Кременецкая

¹ Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья
им. И. В. Тананаева Кольского научного центра РАН

² Научно-исследовательский центр медико-биологических проблем адаптации
человека в Арктике Кольского научного центра РАН

Статья поступила в редакцию 25.05.2016

Проведена оценка вклада магния в снижение биологической эффективности растворов, содержащих ионы никеля, который является главным токсикантом техногенного ландшафта в окрестностях медно-никелевого предприятия. Показано, что невысокие концентрации никеля в растворе (0,5 и 1,0 мг/л) оказывают на растительные объекты стимулирующее, а не подавляющее действие, что выражается в первую очередь в увеличении всхожести семян лука. При добавлении магния в концентрации 50-300 мг/л в никельсодержащий раствор происходило снижение биологической эффективности никеля.

Ключевые слова: никель, магний, токсичность, биоэффективность, всхожесть, интенсивность роста, цитостатичность

В районах Арктики и Субарктики естественные таежные и тундровые растительные сообщества относятся к наиболее уязвимым экосистемам, которые в зонах интенсивного воздействия пылегазовых выбросов промышленных предприятий деградируют и превращаются в техногенные пустоши [1, 2]. Высокие уровни токсичных веществ в почвах и водоемах импактных зон определяют актуальность исследований для поиска способов снижения загрязнения техногенных ландшафтов тяжелыми металлами (ТМ). В работе Евдокимовой Г.А. [3] особое внимание уделено изучению физико-химических механизмов, обуславливающих фитотоксичность загрязненных почвенных субстратов. В модельном полевом опыте показано снижение интенсивности миграции ТМ из почвы в растения при внесении известковых удобрений в искусственно загрязненную почву. Кроме того, укрупненный полевой эксперимент показал, что в условиях действующего предприятия чистая плодородная почва в течение нескольких лет становится токсичной в результате накопления компонентов аэротехногенных выбросов.

Перспективным направлением в рамках природоохранной деятельности является технология, предусматривающая использование соединений пролонгированного действия, способных снижать токсичность почвенного слоя и создавать благоприятные условия для формирования устойчивых растительных сообществ [4]. Согласно предложенной технологии в районе г. Мончегорска (Мурманская обл.) проведен многолетний полевой эксперимент, который показал, что

фитоценозы, сформированные из местных популяций травянистых злаков на мелиорантах из горнопромышленных отходов с применением термовермикулита, оказались устойчивыми к аэротехногенной нагрузке, способными к самостоятельному существованию и обеспечению начального этапа восстановительной сукцессии в условиях действующего предприятия. На территории Мурманской обл. в качестве сырья для получения мелиоранта целесообразно использовать серпентинсодержащие отходы добычи флогопитовых руд (ООО «Ковдорслюда», г. Ковдор). Особенностью данного материала является повышенное содержание магния. В связи с этим необходимо установить, какое влияние оказывает магний на жизнедеятельность биологических объектов в условиях высокого уровня загрязнения ТМ, не рассматривая процессы связывания их магнезиальными минеральными фазами. Следует отметить, что в известном исследовании одним из факторов снижения фитотоксичности почв в результате добавления кальция (при известковании) является уменьшение подвижности меди и никеля путем трансформации подвижных форм в прочносвязанное состояние [3]. Вопрос о влиянии растворенных форм кальция и магния на токсичность почвы остался за рамками цитируемой работы.

Задача: изучить биохимическое взаимодействие магния и никеля при совместном присутствии в питательном растворе.

Объекты исследования: семена и проростки лука репчатого (*Allium cepa* L.) и огурца обыкновенного (*Cucumis sativus* L.). Всхожесть и изменение длины корней являются показателями токсичности изучаемого фактора. Основная часть поступающих в растение веществ поглощается через корневую систему, которая обладает высокой чувствительностью к большинству токсикантов и сравнительно высокой скоростью роста [5-8]. Благодаря этому в корне можно наблюдать первичные негативные реакции растения, при этом изменение роста корня довольно легко фиксировать, что делает работу с ним достаточно удобной. *Allium*-тест показателен в широком диапазоне значений pH (3,5-11), в пределах которого не наблюдается каких-либо

Мосендз Ирина Александровна, младший научный сотрудник лаборатории минерального сырья и силикатного синтеза. E-mail: mosendz@chemy.kolasc.net.ru

Петрашова Дина Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник научного отдела. E-mail: petrashova@admksa.apatity.ru

Дрогобужская Светлана Витальевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химических и оптических методов анализа. E-mail: drogo_sv@chemy.kolasc.net.ru

Кременецкая Ирина Петровна, кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории минерального сырья и силикатного синтеза. E-mail: kremen@chemy.kolasc.net.ru

эффектов на росте корневой системы [9]. Наблюдение за подавлением образования боковых корней у проростков огурца является хорошим тестом для определения цитостатичности соединений благодаря тому, что у огурца, как и других тыквенных, боковые корни закладываются в меристеме и при прорастании появляются уже на третий день [10, 11].

Цель работы: проведение оценки вклада магния в снижение биологической эффективности растворов, содержащих ионы никеля, который является главным токсикантом в зоне воздействия выбросов медно-никелевых комбинатов.

Материалы и методика исследований. Проведен краткосрочный скрининг-тест на растительных объектах – луке репчатом (*A. cepa*) и огурце обыкновенном (*C. sativus*). Во-первых, исследовано влияние никеля без добавления магния, концентрация растворов составляла 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 мг/л Ni. Во-вторых, изучено совместное действие никеля и магния в растворах с концентрацией никеля 0,5 и 1,0 мг/л, магния – 0, 5, 50, 100 и 300 мг/л. Растворы готовились с использованием реактивов – сульфатов никеля и магния. В качестве контрольного раствора брали дистиллированную воду.

Семена *A. cepa* и *C. sativus* помещали по 50 и 30 шт. соответственно в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу в 3-х повторностях на каждый раствор. Инкубация происходила при стабильной температуре 20–22°C. Ежедневно семена проверяли на прорастание. После завершения инкубации семян лука и определения всхожести в течение 10 дней корни фиксировали в уксусном спирте для проведения в дальнейшем ана-телофазного теста. Измерение длины корней и подсчет количества боковых корней огурца проводили на четвертый день после прорастания семян. Всего анализу подвергалось не менее 20 проростков огурца из каждой чашки Петри [12, 13]. Статистическая обработка проводилась стандартными методами с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Достоверность принималась при уровне $p < 0,05$.

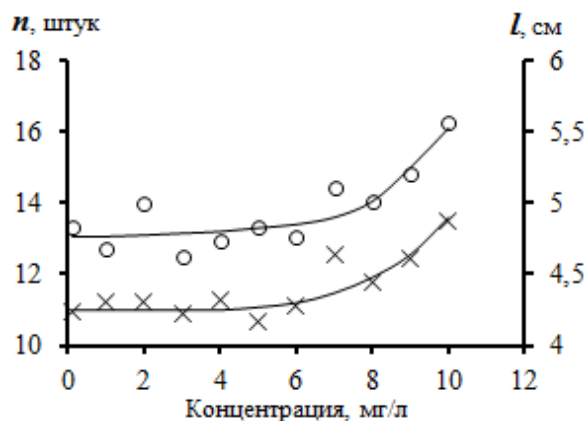


Рис. 1. Количество боковых корней n (о) и длина основного корня l (x) *C. sativus* в зависимости от концентрации Ni в растворе

Результаты и обсуждение. Определение токсического воздействия никеля в широком диапазоне концентраций выполнено с использованием тест-объекта *C. sativus*. Установлено, что количество боковых корней и длина основного корня огурца имеют тенденцию к увеличению при возрастании концентра-

ции никеля в растворе от 0 до 10 мг/л, при этом коэффициенты корреляции составили 0,75 и 0,77 ($p < 0,05$) соответственно (рис. 1). Следует отметить, что растворы с концентрацией никеля до 5 мг/л оказывают слабое влияние на показатели роста проростков.

Увеличение биологической эффективности никеля в небольших концентрациях проявилось в опытах по проращиванию семян лука. Всхожесть семян *A. cepa* резко возрастает в растворах, содержащих никель в концентрации 0,5–1,0 мг/л, причем в исследованном диапазоне скорость прорастания семян не зависит от содержания никеля (рис. 2). Таким образом, биологическая эффективность никеля в небольших концентрациях (0,5–1,0 мг/л Ni) проявляется в стимулировании всхожести семян *A. cepa*, а при концентрациях 5–10 мг/л наблюдается интенсификация скорости роста корня *C. sativus*.

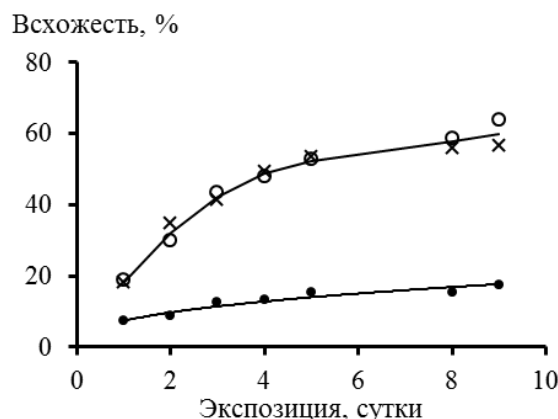


Рис. 2. Показатели уровня всхожести семян *A. cepa* при разной продолжительности экспозиции в никель-содержащих растворах с концентрациями 0,5 мг/л (о) и 1 мг/л (x) и в контрольном растворе (•)

Согласно литературным данным при содержании небольшого количества никеля в среде, прорастание семян многих видов растений усиливается [14], т.к. никель входит в число важных микроэлементов и является необходимым компонентом для бактерий и высших растений. Никельсодержащий фермент уреазы, локализованный в вегетативных тканях и семенах растений, принимает участие в трансформации мочевины, он необходим для стабилизации структуры фермента и проявления им каталитических свойств [15]. В обеспеченных никелем растениях активность уреазы выше и, соответственно, содержание мочевины ниже по сравнению с растениями, необеспеченными никелем [16]. Опыт с добавлением магния в никельсодержащие растворы (Ni 0,5 и 1,0 мг/л) показал, что магний способствует процессу образования боковых корней и росту основного корня *C. sativus*, причем данные показатели превышают и значения, полученные при проращивании семян в контрольном растворе (рис. 3).

Как показали результаты опытов с использованием растворов без добавления магния, влияние никеля на рост основного корня и образование боковых корней является не столь однозначным, как на всхожесть семян. В настоящей работе в двух независимых опытах наблюдалось снижение скорости роста корня *C. sativus* при концентрации 1 мг/л (рис. 1, 3). Согласно литературным данным, присутствие физиологически необходимого количества ионов никеля в среде не приводит к накоплению металла в проростках, но вызывает проявления окислительного стресса,

выражающегося в увеличении содержания перекиси водорода, пролина, возрастании активности каталазы и пероксидазы [17].

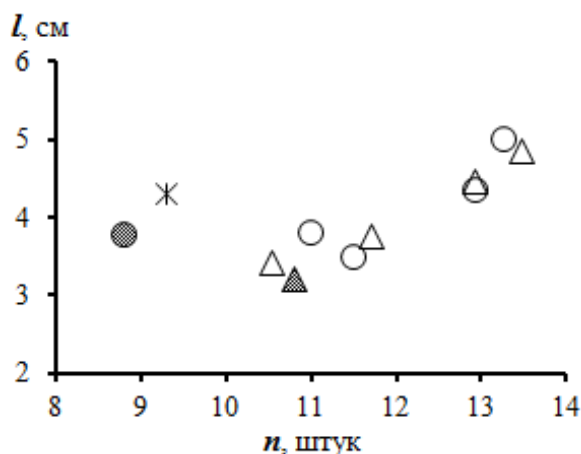


Рис. 3. Диаграмма рассеяния количества боковых корней n и длины основного корня l *C. sativus* в растворах с концентрацией никеля 0,5 мг/л (Δ , $\blacktriangle$) и 1 мг/л ($\circ$, $\bullet$) без добавления ($\blacktriangle$, $\bullet$) и с добавлением магния (Δ , $\circ$), * - контроль

Известно, что активные радикалы взаимодействуют с пигментами, липидами, белками, нуклеиновыми кислотами, в результате чего может происходить нарушение структуры и функций липидов, белков, ДНК. Торможение роста растений позволяет перераспределить энергетические затраты, необходимые для репарации повреждений ДНК и формирования защитных механизмов [18]. Помимо этого для никеля описано косвенное влияние на активность ферментов в органах растений. Так, в экспериментах по выращиванию *Beta vulgaris* на почве с добавлением 1 мМ сульфата Ni было показано снижение активности нитратредуктазы, что было связано с уменьшением поглощения и скорости транспорта нитратов в побеги, где они обычно восстанавливаются. Также при снижении количества нитратов в цитоплазме происходит ингибирование активности глутаминсинтетазы и аланинаминотрансферазы [19].

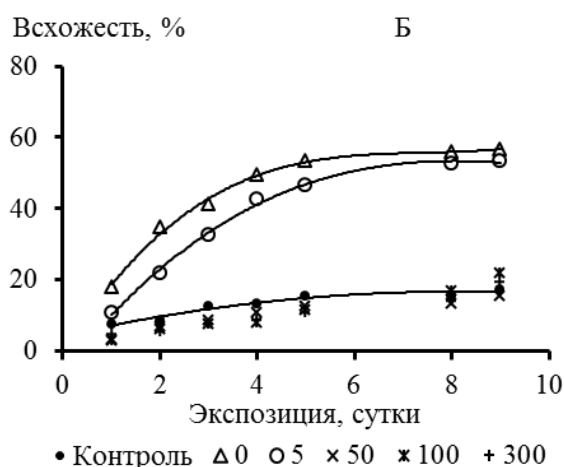


Рис. 4. Влияние магния на показатели уровня всхожести семян *A. сера* растворах с концентрацией никеля 0,5 мг/л (А) и 1,0 мг/л (Б) (легенда - концентрация магния, мг/л)

Тенденция снижения биологической эффективности никеля в присутствии магния проявилась на уровне всхожести семян *A. сера*. При концентрации магния 50-300 мг/л всхожесть семян становилась сопоставимой со значениями, полученными в контрольном опыте (рис. 4). Из рисунка видно, что даже при добавлении концентрации магния до 5 мг/л в никель-содержащие растворы (0,5 и 1 мг/л) показатель всхожести несколько снижается, что указывает на наличие биохимических взаимодействий между никелем и магнием. Согласно литературным данным, ионы никеля оказывают токсическое действие на Mg^{2+} -зависимые АТФазы плазмолеммы *in vitro*. Это происходит посредством его связывания с сульфгидрильными группами ферментов [20]. Возможно, избыток магния в растворе подавляет данный процесс.

Выводы: невысокие концентрации никеля в растворе оказывают на растительные объекты стимулирующее, а не подавляющее действие, что выражалось в первую очередь в увеличении всхожести семян лука. Наблюдаемый эффект, по всей видимости, связан с увеличением активности никельсодержащего фермента уреазы, играющего важную роль в метаболизме мочевины в семенах и вегетирующих органах растений. При добавлении магния в концентрации 50-300 мг/л в никельсодержащий раствор происходило снижение биологической эффективности никеля, о чем свидетельствует тот факт, что показатели всхожести семян и роста проростков становились близки к контрольным значениям. Вероятно, магний, связывая ионы никеля, делает этот тяжелый металл недоступным для всасывания корнями растений. Стимулирующее действие небольших концентраций никеля на растения может носить относительно положительный эффект, поскольку возможны нарушения ДНК, вызванные окислительным стрессом, индуцированным никелем. Поэтому задачей дальнейших исследований является изучение цитогенотоксичности совместного воздействия никеля и магния с использованием *Allium*-теста, рекомендованного экспертами Всемирной организации здравоохранения как стандарт в цитогенетическом мониторинге окружающей среды.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны Российской Федерации».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Remon, E. Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: Implications in risk assessment and site restoration / E. Remon, J.-L. Bouchardon, B. Cornier et al. // Environmental Pollution. 2005. №137. P. 316-323.
2. Kozlov, M.V. Industrial barrens: extreme habitats created by non-ferrous metallurgy / M.V. Kozlov, E.L. Zvereva // Rev. Environ. Sci. Soppe, 1989; Biotechnol. 2007. № 6. P. 231-259.
3. Евдокимова, Г.А. Эколого-микробиологические основы охраны почв Крайнего Севера. – Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 1995. 272 с.
4. Калинин, В.Т. Приемы адаптивных технологий при создании культурфитоценозов в условиях техногенных ландшафтов Субарктики, загрязненных тяжелыми металлами / В.Т. Калинин, И.П. Кременецкая, Л.А. Иванова и др. // Вестник Кольского научного центра РАН. 2014. №2 С. 78-88.
5. Серегин, И.В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения / И.В. Серегин, В.Б. Иванов // Физиология растений. 2001. Т.48. С. 606-630.

6. Иванов, В.Б. Сравнение влияния тяжелых металлов на рост корня в связи с проблемой специфичности и избирательности их действия / В.Б. Иванов, Е.И. Быстров, И.В. Серегин // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 445-454.
7. Кожевникова, А.Д. Распределение никеля в проростках кукурузы и его ингибирующее действие на рост: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М.: ИФР, 2006. 18 с.
8. Кожевникова, А.Д. Влияние тяжелых металлов и стронция на деление клеток корневого чехлика и структурную организацию меристемы / А.Д. Кожевникова, И.В. Серегин, Е.И. Быстрова, В.Б. Иванов // Физиология растений. 2007. Т. 54. С. 290-299.
9. Fiskesjö, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring // Hereditas. 1985. Vol. 102. P. 99-112.
10. Иванов, В.Б. Проростки огурца как тест-объект для обнаружения эффективных цитостатиков / В.Б. Иванов, Е.И. Быстрова, И.Г. Дубровский // Физиология растений. 1986. Т. 33. С. 195-199.
11. Иванов, В.Б. Клеточные механизмы роста растений. – М.: Наука, 2011. 104 с.
12. Петрашова, Д.А. Использование счётных и метрических признаков *Cucumis sativus* в биоиндикации ионизирующего излучения / Д.А. Петрашова, Р.Е. Михайлов // Математические исследования в естественных науках. Труды IX Всеросс. науч. школы. Апатиты, Геологический институт Кольского НЦ РАН, Кольское отделение РМО, 10-11 октября 2013 г. / Ред. Ю.Л. Войтеховский. – Апатиты: Изд-во К & М, 2013. С. 151-159.
13. Петрашова, Д.А. Цитогенетические эффекты высокоэнергетической нейтронной компоненты космических лучей / Д.А. Петрашова, Н.К. Белишева // Труды Кольского научного центра РАН: Гелиогеофизика. 2015. №6(32). С. 41-49.
14. Mishra, D. Nickel in plant growth and metabolism / D. Mishra, M. Kar // Bot. Rev. 1974. V. 40. P. 395-452.
15. Dixon, N.E. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel / N.E. Dixon, C. Gazzola, R.L. Blakeley, B. Zerner // J. Am. Chem. Soc. 1975. V. 97. P. 4131-4133.
16. Welch, R.M. The biological significance of nickel // Journal of Plant Nutrition. 1981. V.3. N1-4. P. 345-356.
17. Абрамова, Э.А. Содержание фотосинтетических пигментов и аскорбиновой кислоты в проростках вики в присутствии хлорида никеля / Э.А. Абрамова, В.В. Иванищев // Научные ведомости БелГУ. 2012, № 9 (128). Вып. 19. С. 152-155.
18. Чиркова, Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. 244 с.
19. Kevresan, S. Effects Heavy Metals on Nitrate and Protein Metabolism in Sugar Beet / S. Kevresan, M. Petrovic, M. Popovic, J. Kandrac // Biol. Plant. 1998. V. 41. P. 235-240.
20. Ros, R. In Vivo and In Vitro Effects of Nickel and Cadmium on the Plasmalemma ATPase from Rice (*Oryza sativa* L.) Shoots and Roots / R. Ros, A. Morales, J. Segura, I. Picazo // Plant Sci. 1992. V. 83. P. 1-6.

EVALUATION THE CHANGE OF BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF NICKEL SOLUTION IN MAGNESIUM PRESENCE USING THE PLANTS TEST OBJECTS

© 2016 I.A. Mosendz¹, D.A. Petrashova², S.V. Drogobuzhskaya¹, I.P. Kremenetskaya¹

¹ I.V. Tananaev Institute of Chemistry and Technology of Rare Elements and Mineral Raw Materials Kola Science Center RAS

² Scientific Research Centre for Medical and Biological Problems of Human Adaptation in Arctic Kola Science Center RAS

The evaluation of magnesium contribution in the reduction of biological activity of solutions, containing nickel ions, which are the main toxicant of technogenic landscape in neighbourhood of copper-nickel enterprise was carried out. It was shown that not high concentrations of nickel in solution (0,5 и 1,0 mg/l) has given on the plant test-objects rather stimulatory than inhibitory action that was primarily expressed as germination increase of the onion seeds. At adding magnesium in concentration of 50-300 mg/l in nickel containing solution the reducing of nickel biological efficiency was taken place.

Key words: *nickel, magnesium, toxicity, biological efficiency, germination, growth speed, cytostasis*

Irina Mosendz, Minor Research Fellow at the Laboratory of Mineral Raw Materials and Silicate Synthesis. E-mail: mosendz@chemy.kolasc.net.ru

Dina Petrashova, Candidate of Biology, Research Fellow at the Scientific Department. E-mail: petrashova@admksk.apatity.ru

Svetlana Drogobuzhskaya, Candidate of Chemistry, Senior Research Fellow at the Laboratory of Chemical And Optical Methods of Analysis. E-mail: drogo_sv@chemy.kolasc.net.ru

Irina Kremenetskaya, Candidate of Technical Sciences, Senior Research Fellow at the Laboratory of Mineral Raw Materials and Silicate Synthesis. E-mail: kremen@chemy.kolasc.net.ru