



УДК 630*174.754:504.054:669.5

Ю.В. Иванов¹, Ю.В. Савочкин¹, С.И. Марченко², В.П. Иванов²¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН²Брянская государственная инженерно-технологическая академия

Иванов Юрий Валерьевич родился в 1983 г., окончил в 2005 г. Брянскую государственную инженерно-технологическую академию, кандидат биологических наук, научный сотрудник Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Имеет 48 печатных работ в области физиологии растений.

E-mail: ivanovinfo@mail.ru



Савочкин Юрий Валерьевич родился в 1986 г., окончил в 2008 г. Брянскую государственную инженерно-технологическую академию, аспирант Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Имеет 3 печатные работы в области лесной таксации и физиологии древесных растений.

E-mail: savochkin@mail.ru



Марченко Сергей Иванович родился в 1961 г., окончил в 1983 г. Брянский технологический институт, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры лесоводства, лесных культур и почвоведения Брянской государственной инженерно-технологической академии. Имеет более 50 печатных работ в области лесовосстановления, лесного почвоведения, оценки окружающей природной среды методами дендроиндикации.

E-mail: mars_bryansk@mail.ru



Иванов Валерий Павлович родился в 1947 г., окончил в 1971 г. Брянский технологический институт, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой лесоводства, лесных культур и почвоведения Брянской государственной инженерно-технологической академии. Имеет более 100 печатных работ в области лесного хозяйства и экологии.

E-mail: ivpinfo@mail.ru



АНАЛИЗ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ *Pinus sylvestris* L. НА РАННИХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИНКА

Изучено влияние $ZnSO_4$ на рост и развитие всходов сосны обыкновенной в условиях водной культуры. Выявлен предел летальных и сублетальных концентраций препарата. Показано ингибирование роста органов всходов, в особенности корневой системы. Обоснована возможность использования сосны обыкновенной в качестве биоиндикатора токсического действия тяжелых металлов.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, тяжелые металлы, токсический эффект, ингибирование роста.

В последние десятилетия лесные системы испытывают возрастающее техногенное воздействие промышленных предприятий и автотранспорта в виде загрязнений атмосферы, почвы и воды. Особую группу негативных факторов составляют тяжелые металлы, так как они не подвержены биодеструкции,

аккумулируются в почвах до токсических концентраций, вызывая деградации и необратимые сукцессии фитоценозов. В этой группе уникальная роль принадлежит цинку, который входит в состав всех классов ферментов (оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы) [11].

В промышленных объемах цинк начали добывать с конца XVIII в., а к 2011 г. уровень мировой добычи достиг 11,1 млн т в год, что обусловлено его использованием в производстве стали и сплавов, резины, красок, пластиков и пестицидов [15]. В результате возросли объемы выбросов предприятиями и концентрация цинка в почве, атмосфере и водных бассейнах [3]. Высокое содержание цинка в почвах вблизи добывающих предприятий отмечено в Нидерландах – 1020, Австрии – 8900, Греции – 10 457 мг/кг [12]. На сельскохозяйственных землях содержание цинка увеличивается в результате применения удобрений (преимущественно суперфосфатов). Рост автомобильного парка приводит к повышению загрязнения придорожных полос от выбросов двигателей внутреннего сгорания, износа шин, где содержится 1,3...2,0 % оксида цинка [7]. Цинк интенсивно поглощается растительностью (до 5160 тыс. т в год), что делает его одним из основных и опасных загрязнителей биоты [3].

Основным критерием степени нарушения лесных экосистем является дисбаланс химического состава растений, что проявляется в антагонизме эссенциальных элементов и накоплении токсичных веществ. Так, в хвое сосны в районах горнодобывающего производства отмечены очень высокие валовые концентрации Zn, Al, S, Pb [3]. Популяции, устойчивые к высокому содержанию тяжелых металлов, впервые выявлены в биогеохимических провинциях с природным обогащением Cu, Zn, Co, Ni, Cr [21]. Действие цинка на растения начали изучать сравнительно недавно, в основном на сельхозкультурах: рисе, пшенице [21], хлопке [17], сахарном тростнике [11], томате [16]. Многие исследования выполнены на дикорас-

тущих травянистых растениях: смолевке приморской [21], полевице тонкой, овсянице красной, щетиннике зеленым [20], очитке [1]. Существенный вклад в понимание механизмов действия тяжелых металлов внесло изучение модельных объектов: резуховидки Талля (*Arabidopsis thaliana* L.) [21] и хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) [4].

Сведения о действии цинка на древесно-кустарниковую растительность малочисленны [3]. Исследуются, как правило, листовые породы: осина (*Populus tremula* L.), тополь белый (*Populus alba* L.) [14, 22], ива корзиночная (*Salix viminalis* L.) [14], акация (*Acacia holosericea* L.). Известны исследования влияния цинка на сеянцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), инокулированной различными микоризообразователями [8, 9, 13].

Актуальной научной проблемой является изучение воздействия цинка в различных концентрациях на рост, развитие сеянцев хвойных и проявление токсического эффекта. Цель нашей работы заключается в выявлении особенностей токсического действия сульфата цинка на всхожесть семян и формирование органов сеянцев на ранних этапах онтогенеза сосны обыкновенной, обширный ареал которой охватывает геохимические аномалии с повышенным содержанием тяжелых металлов.

Семена сосны обыкновенной получены в Брянской лесосеменной станции ФГУ «Рослесозащита» в 2009 г. После предпосевной стерилизации их проращивали в условиях водной культуры с содержанием $ZnSO_4$ 1,26 (контроль), 100, 250, 500, 800, 1100 и 1500 мкМ (мкмоль/л). После разветывания семян всходы выращивали в камере фитотрона при 12-часовом световом периоде на модифицированной питательной

среде Кнопа [2] с соответствующей концентрацией $ZnSO_4$. Растворы заменяли через 5 дн. По достижении сеянцами возраста 6 нед. (сформированы корневая система и первичная хвоя) их вынимали, подсушивали на фильтровальной бумаге, взвешивали с точностью 0,1 мг и сканировали с разрешением 800 dpi. Измерения проводили в программе MapInfo Professional v. 9.5 с точностью 0,01 мм.

Анализ показал, что в испытанных концентрациях $ZnSO_4$ вызывал увеличение всхожести семян в среднем на 13,2 %. Наибольший эффект наблюдался при концентрациях 250, 500 и 800 мкМ, превышение над контролем составило 22,5; 24,2 и 21,6 % соответственно. При наименьшей концентрации (100 мкМ) увеличение всхожести не отмечено, при высоких (1100 и 1500 мкМ) зафиксировано ингибирующее действие. Увеличение всхожести семян в диапазоне концентраций 50...800 мкМ и ингибирование прорастания при более высоких их значениях показано на растениях *Mesembryanthemum crystallinum* L. [4] и смолевке приморской (*Silene maritima* With.) [21]. Однако в опытах с щетинником зеленым (*Setaria viridis* L.) в диапазоне концентраций до 1000 мкМ влияние цинка на прорастание семян не установлено [20].

Цинк при всех испытанных концентрациях вызвал увеличение энергии прорастания семян сосны. В контроле массовое прорастание отмечалось на 9–11-й, а при действии цинка – на 5–7-й день. При концентрациях 250, 500 и 800 мкМ энергия прорастания семян была высокой, при 1100 и 1500 мкМ значительно ниже. Возможным механизмом, объясняющим наблюдаемое явление, на наш взгляд, является активация цинком фермента целлюлазы, играющего важную роль при прорастании семян [5].

В высоких концентрациях (1100, 1500 мкМ) цинк вызывал увеличение числа ненормально проросших семян в 2,25 и в 2,50 раза, при средних концентрациях существенных отклонений не выявлено. Наблюдаемые эффекты можно объяснить генотоксичным действием цинка, проявляющимся в разбалансировке окислительных реакций с образованием свободных радикалов и повышении частоты хромосомных aberrаций [21].

Под влиянием цинка снизилось количество загнивающих при прорастании семян в 2,3–11,6 раза по сравнению с контролем, что объясняется его асептическими свойствами и ингибированием развития патогенной микрофлоры. Наиболее заметные эффекты воздействия цинка проявляются после разрушения семенной кожуры и выхода корня.

На 30-й день эксперимента цинк вызвал увеличение количества погибших всходов при всех исследованных концентрациях. При 100 мкМ гибель всходов превышала контрольный уровень в 4,7 раза, при 500, 800, 1100 и 1500 мкМ соответственно в 7,6; 9,0; 14,6 и 22,0 раза. Последующий мониторинг в течение 20 дн. выявил рост гибели всходов при средних и низких концентрациях вследствие хронического токсического действия цинка. Примечательно, что в контрольной группе погибшие всходы еще не развились до стадии сброса семенной кожуры. Под действием $ZnSO_4$ количество погибших всходов в семенной кожуре было меньше, чем сбросивших ее.

К окончанию эксперимента количество погибших всходов по сравнению с контролем кардинально отличалось от наблюдаемого на 30-й день: при действии 100 мкМ цинка – в 2 раза, при 1100 и 1500 мкМ – в 4,9–5,2 раза, что объясняется проявлением дозового эффекта.

Цинк в высоких концентрациях вызывает острый токсический эффект, приводящий к гибели растений за короткие промежутки времени, а в низких и средних, характеризующих хронический эффект, – за более длительные периоды.

Сравнение устойчивости разных видов растений по данному показателю представляет сложность в связи с большой вариабельностью признака. Например, в экспериментах с 6 видами морских водорослей показана их гибель в течение 21 дн. при концентрации цинка 76 мкМ [21]. Для древесных видов – эвкалипта камальдульского (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), акации (*Acacia holosericea* L.), кайюпутового дерева (*Melaleuca leucadendra* L.) – в течение 10 нед. критическим оказалось действие 20, 12 и 1,5 мкМ соответственно [19]. При концентрациях свыше 1000 мкМ отмечена гибель хрустальной травки в течение 3-4 дн., а при содержании в среде 800 мкМ $ZnSO_4$ растения завершают онтогенез и формируют жизнеспособные семена [4]. Культивируемый в условиях *in vitro* тополь белый частично устойчив к цинку в концентрациях 500...3000 мкМ [22]. Клетки помидора в условиях *in vitro* выдерживают действие 5000 мкМ цинка [16].

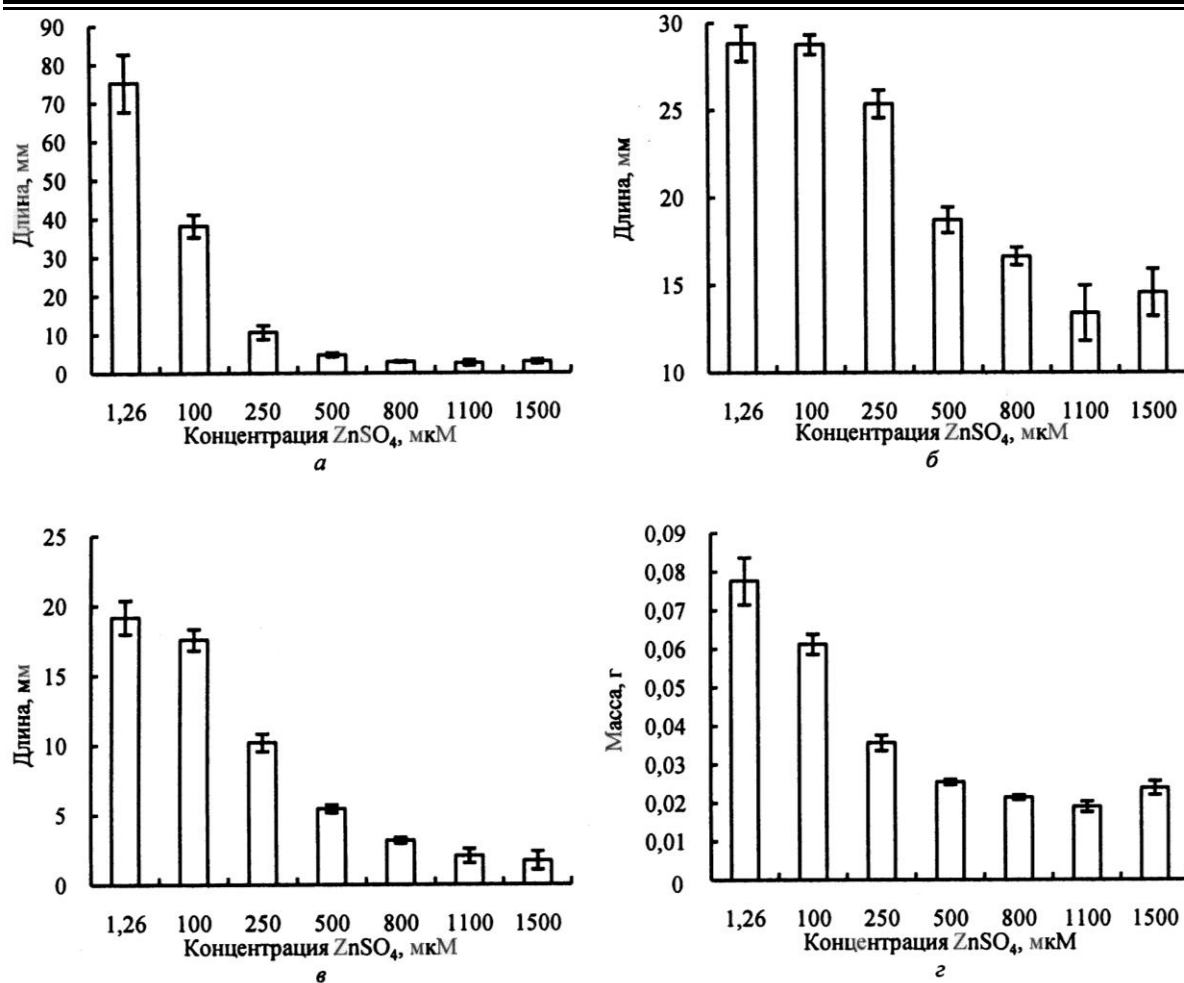
Влияние любого стрессора сопровождается ингибированием роста органов растений. Как правило, тормозится удлинение корня [2, 10, 18]. Токсическое действие цинка на рост корневой системы обнаружено во всех вариантах испытанных концентраций. При 100 мкМ ингибирование роста корня составляет 49,3 %. Более высокие концентрации приводят к практически полному подавлению роста корня, при 250, 500...1500 мкМ соответственно на 86 и 93,8...96,9 % (рис. а). При этом сопоставимой редукции размеров стволиков и семядолей не про-

исходило (рис. б). Уменьшение размеров стволиков отмечено от концентрации 250 мкМ включительно, где оно составляло 12,1%. Цинк в более высоких концентрациях вызвал большее снижение длины стволика – на 35,1 % при 500 мкМ и на 53,6 % при 1100 мкМ.

Слабое действие цинк оказывал на рост семядолей всходов. Минимальные размеры (на 22,4% меньше контроля) отмечены при концентрациях более 800 мкМ. Превышение барьера 10 %-го ингибирования наблюдалось при концентрациях 250 и 500 мкМ. Таким образом, в условиях токсического действия цинка семядоли всходов развивались более стабильно.

Сопоставимое влияние цинк оказал на рост первичной хвои (рис. в). Значительный ингибирующий эффект действия $ZnSO_4$ отмечен при концентрации более 250 мкМ (46,8 %). Динамика уменьшения прироста хвои при высоких концентрациях сопоставима с уменьшением длины корней. Действие $ZnSO_4$ в концентрациях 1100 и 1500 мкМ приводило к практически 90 %-му ингибированию роста хвои. Следствием уменьшения размеров сеянцев явилось и снижение их общей биомассы (рис. г). При концентрации 100 мкМ масса снизилась на 21,1 % от контроля, при 250 мкМ – на 54,1 %, еще больше при более высоких концентрациях.

В экспериментах с сеянцами сосны обыкновенной, инокулированными эктомикоризным грибом *Suillus bovinus* (L. Fr.) Roussel, видимые симптомы подавления роста не проявлялись в течение 7 нед. при 0,1...150 мкМ (Zn^{2+}). Но длительное (в течение 9 мес) выращивание выявило повышенную чувствительность корней по сравнению с надземной частью [6, 13].



Влияние цинка на ростовые процессы сосны на ранней стадии онтогенеза: а – длина корня; б – длина стволика; в – длина первичной хвои; г – масса всхода

Установлено, что обработка цинком семян сосны обыкновенной приводит к снижению общей длины корней, однако не происходит существенного уменьшения биомассы корней и надземной части [9]. У однолетних семян сосны, инокулированных эктомикоризными грибами, при выращивании на твердом субстрате с обработкой 7000 и 14 000 мкМ ZnSO₄ не выявлено влияния на прирост и биомассу надземной части [8].

Один из симптомов токсического действия цинка, который не удалось обнаружить в наших экспериментах, – развитие хлороза хвои, что подтверждается исследованиями других авторов, выполненными на сосне обыкновенной. У большинства видов растений действие цинка, помимо ингибирования роста, приводит к развитию различных типов хлорозов [10, 17].

Проявление их симптомов при избытке цинка связывают с развитием дефицита необходимых микроэлементов (марганец, магний и железо) [10, 21]. В результате цинк замещает марганец в мембранах тилакоидов и, как следствие, ингибирует фотосистему II [17]. Происходит редукция фотосинтетического транспорта электронов и эффективности фотосинтеза [13]. Отсутствие симптомов хлороза в наших экспериментах можно объяснить достаточной обеспеченностью растений микроэлементами (в хорошо доступной форме) и частой заменой питательного раствора.

Выводы

1. Цинк в оптимальных дозах оказывает положительное влияние на прорастание семян, подавляя развитие патогенной микрофлоры.

2. Сеянцы сосны обыкновенной на ранних этапах онтогенеза характеризуются высокой чувствительностью к цинку, что проявляется в ингибировании их роста и развития, особенно корневой системы и первичной хвои.

3. Превышение содержания цинка в почвенном растворе до 250 мкМ приводит к гибели сеянцев, ввиду острой токсичности для корневой системы.

4. Развитие семядолей и рост стволиков всходов сосны обыкновенной характеризуется высокой стабильностью на фоне негативного воздействия цинка, что обусловлено генотипом вида.

5. Высокая чувствительность сосны обыкновенной к действию цинка на ранних этапах онтогенеза делает ее значимым индикатором токсического действия тяжелых металлов в природных экосистемах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антиоксидантная система в корнях двух контрастных экотипов *Sedum alfredii* при повышенных концентрациях цинка / Т.К. Ли [и др.] // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 6. С. 886–894.
2. Иванов Ю.В., Карташов А.В., Савочкин Ю.В. Устойчивость всходов *Pinus sylvestris* и *Picea abies* к солевому стрессу // Лесн. вестн. 2010. № 3 (72). С. 119–123.
3. Рассеянные элементы в бореальных лесах / В.В. Никонов [и др.]; отв. ред. А.С. Исаев. М.: Наука, 2004. 616 с.
4. Холодова В.П., Волков К.С., Кузнецов В.В. Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной травки и возможность их использования в целях фиторемедиации // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 6. С. 848–858.
5. Abushama F.T., Kambal M.A. The role of zinc in the activation of the enzyme cellulose in termites // Cellular and Molecular Life Sciences. 1976. Vol. 32, N 1. P. 19–20.
6. Adriaensen K., Vangronsveld J., Colpaert J.V. Zinc-tolerant *Suillus bovinus* improves growth of Zn-exposed *Pinus sylvestris* seedlings // Mycorrhiza. 2006. Vol. 16. P. 553–558.
7. Altaf W.J. Botanical environmental monitors for zinc pollution resulting from vehicular traffic // Journ. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 2007. Vol. 271, N 3. P. 665–670.
8. Colpaert J.V., Van Assche J.A. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* // Plant and Soil. 1992. Vol. 143. P. 201–211.
9. Hartley-Whitaker J., Cairney J.W.G., Meharg A.A. Sensitivity to Cd or Zn of host and symbiont of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) seedlings // Plant and Soil. 2000. Vol. 218. P. 31–42.
10. Hell R., Mendel R.-R. Cell biology of metals and nutrients // Springer, 2010. 285 p.
11. Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.) / R. Jain [a.o.] // Acta Physiol. Plant. 2010. Vol. 32. P. 979–986.
12. Kabata-Pendias A., Mukherjee A.B. Trace elements from soil to human // Springer, 2007. 576 p.
13. Krupa P., Kozdroj J. Ectomycorrhizal fungi and associated bacteria provide protection against heavy metals in inoculated pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings // Water, Air, and Soil Pollution. 2007. Vol. 182. P. 83–90.
14. Leaf responsiveness of *Populus tremula* and *Salix viminalis* to soil contaminated with heavy metals and acidic rainwater / S. Hermle [a.o.] // Tree Physiology. 2007. Vol. 27. P. 1517–1531.
15. Mineral commodity summaries // U.S. Geological Survey, 2010. 193 p.
16. Muschitz A., Faugeron C., Morvan H. Response of cultured tomato cells subjected to excess zinc: role of cell wall in zinc compartmentation // Acta Physiol. Plant. 2009. Vol. 31. P. 1197–1204.
17. Physiology of cotton / J. McD. Stewart [a.o.] // Springer, 2010. 564 p.
18. Response of antioxidant enzymes in *Nicotiana tabacum* clones during phytoextraction of heavy metals / L. Lyubenova [a.o.] // Environ. Sci. Pollut. Res. 2009. Vol. 16. P. 573–581.
19. Seedling responses of three Australian tree species to toxic concentrations of zinc in solution culture / S.M. Reichman [a.o.] // Plant and Soil. 2001. Vol. 235. P. 151–158.
20. *Setaria viridis* tolerance of high zinc concentrations / N.M. Kaznina [a.o.] // Biology Bulletin. 2009. Vol. 36, N 6. P. 575–581.

21. Sustainable agriculture / E. Lichtfouse [a.o.] // Springer, 2009. 919 p.

22. Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula*×*Populus alba* / T.C. Durand [a.o.] // *Biologia Plantarum*. 2010. Vol. 54(1). P. 191–194.

*Yu.V. Ivanov*¹, *Yu.V. Savochkin*¹, *S.I. Marchenko*², *V.P. Ivanov*²

¹ K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Science

² Bryansk State Academy of Engineering and Technology

Analysis of Growth Processes of Scots Pine at Early Ontogeny Stages in Conditions of Chronic Zinc Effect

The influence of zinc sulphate on Scots pine sprouts growth and development in water culture conditions is investigated. The limit of lethal and sublethal zinc sulphate concentrations is revealed. The inhibition of sprouts body growth, especially the root system, is demonstrated. The possibility of using Scots pine as bioindicator of heavy metals toxic effect is justified.

Keywords: Scots pine, heavy metals, zinc sulphate, toxic effect, growth inhibition.

