

УДК 581.522.5

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИНКА, МЕДИ И КАДМИЯ В КОРНЕВОЙ СИСТЕМЕ ФАСОЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ СРЕД ПРОИЗРАСТАНИЯ

© 2010 Ю.В. Макарова<sup>1</sup>

С помощью гистохимического дитизинового метода установлены закономерности поглощения, локализации и транслокации ионов Zn, Cu и Cd в тканях разных морфологических типов корней у фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), исследованы концентрационные и средовые зависимости перечисленных процессов.

**Ключевые слова:** *Phaseolus vulgaris* L., корневая система, растительные ткани, гистохимический дитизиновый метод, Zn, Cu, Cd, концентрация, среда произрастания.

### Введение

К настоящему времени в рамках экологической геохимии собран обширный материал, касающийся аккумуляции химических элементов группы тяжелых металлов в пищевых сельскохозяйственных растениях. Неугасающий исследовательский интерес к этой теме обусловлен практической стороной вопроса: именно растениеводческая продукция является начальным звеном в трофической цепи, по которой потенциально опасные элементы могут поступать в пищевой рацион человека и в конечном итоге определять качество его жизни. В абсолютном большинстве случаев поставленная задача решается на основе физических, химических и физико-химических аналитических методов, которые при неоспоримых достоинствах (высокий уровень избирательности, чувствительность, точность) тем не менее не могут ответить на многие частные вопросы, значимые в плане раскрытия механизмов аккумуляции и детоксикации соединений тяжелых металлов. Например, каким образом металлоионы распределяются по органам, тканям и клеткам растений, какова функциональная роль различных тканей в процессах поглощения и транслокации, насколько зависим характер распределения тяжелых металлов в растении от их концентрации в среде произрастания и, наконец, каково влияние субстрата на этот процесс. Справиться с этими вопросами, дополнить и конкретизировать результаты аналитических методов возможно средствами гистохимии. В связи с этим целью настоящих исследований являлось гистохимическое изучение особенностей поглощения, аккумуляции и транслокации в корневой системе

<sup>1</sup>Макарова Юлия Владимировна (aconithum@mail.ru), кафедра экологии, ботаники и охраны природы Самарского государственного университета, 443011, Российская Федерация, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), активно вовлекаемых в биологический круговорот Zn, Cu и Cd в зависимости от условий произрастания растения в модельном эксперименте.

## Условия и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали 14-дневные растения фасоли обыкновенной сорта "Щедрая". Действующим фактором являлись растворы солей  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $CuSO_4 \cdot 3H_2O$ ,  $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ , которые готовили в пересчете на содержание металла в одном литре. В итоге развитие водной и субстратных культур растения [1] происходило на следующих экспериментальных концентрациях металлов: Zn — 1000,0; 100,0; 10,0 и 1,0 мг/л, Cu — 500,0; 50,0; 5,0 и 0,5 мг/л, Cd — 50,00; 5,00; 0,50 и 0,05 мг/л. В подборе концентраций руководствовались литературными данными [2], согласно которым предельно допустимая концентрация для Zn составляет 1000,0 мг/л, Cu — 500,0 мг/л, Cd — 50,0 мг/л. Обработку субстрата растворами металлов проводили единожды — в момент высадки семян. В остальное время по мере подсыхания его увлажняли дистиллированной водой. В контрольных вариантах для высадки растений (водная культура) и обработки субстрата использовали дистиллированную воду.

Субстратами для растений служили промытый, прокаленный в муфельной печи речной песок и среднесуглинистый обыкновенный чернозем с содержанием гумусовых веществ 5,9 %, актуальной кислотностью 6,7 ед. и карбонатностью 1,0–2,5 %, отобранный с фонового участка Самарской области [3]. Указанные величины ведущих почвенных характеристик являются вполне благоприятными для роста и развития анализируемого вида [4].

В целях изучения поглощения, аккумуляции и транслокации Zn, Cu и Cd в органах и тканях растения использовали гистохимический дитизоновый метод [5], чувствительность которого в отношении перечисленных ионов составляет  $10^{-5}$  М/л. Из-за невозможности хранения реактив, состоящий из 3 мг дитизона, 6 мл уксусной кислоты, 2 мл дистиллированной воды и 1–2 каплей ледяной уксусной кислоты, готовили непосредственно перед началом работы. Сделанные при помощи острой бритвы прижизненные срезы главного корня (базальный участок зоны ветвления) и отходящих от него здесь же боковых корней (базальные участки) обрабатывали дитизоновым реактивом и исследовали под световым микроскопом при сменном увеличении до 400 раз, отмечая локализацию и интенсивность окраски структурных элементов по балльной шкале (0 — отсутствие окрашивания, 1 — очень слабое окрашивание, 2 — слабое окрашивание, 3 — окрашивание средней интенсивности, 4 — окрашивание высокой интенсивности, 5 — окрашивание очень высокой интенсивности).

## Результаты исследования и их обсуждение

Качественная окраска срезов свидетельствует о присутствии Zn, Cu и Cd во всех тканях корневой системы фасоли независимо от их содержания в средах произрастания. Не являются исключением и контрольные варианты, что может быть обусловлено как первоначальным включением анализируемых химических элементов в структуры покоящегося семени растения, так и процессом их поглощения непосредственно из сред произрастания — песка и почвы (см. рисунок).

Содержание элементов в тканях корневой системы, как правило, определяется их концентрацией в субстрате. При этом корни растений, развивающихся на водных растворах металлов, в силу большей доступности для поглощения аккумулируют Zn, Cu и Cd активнее, чем на песке и почве. Экспериментальной особенностью является интенсификация процесса поглощения и, соответственно, накопления химических элементов в корневой системе в вариантах с внесением в субстрат минимальных концентраций металлов (1,0 мг/л Zn, 0,5 мг/л Cu, 0,05 мг/л Cd) по сравнению с вариантами, где концентрация металлов в субстрате была на порядок выше (10,0 мг/л Zn, 5,0 мг/л Cu, 0,5 мг/л Cd). Выявленная тенденция оказалась несвойственной только для растений, вегетирующих на водных растворах Cd, у которых содержание элемента в тканях главного и боковых корней увеличивается пропорционально росту его концентрации в растворе (см. рисунок). Таким образом, полученные нами данные иллюстрируют не только многократно отмеченное разными авторами и обусловленное возрастом сосущей силы корневой системы явление усиления поступления ионов металлов в растение при синхронном росте их концентрации в среде произрастания, но и возможность поглощения ионов корневой системой с наибольшей скоростью в случае низких их концентраций в субстрате [6].

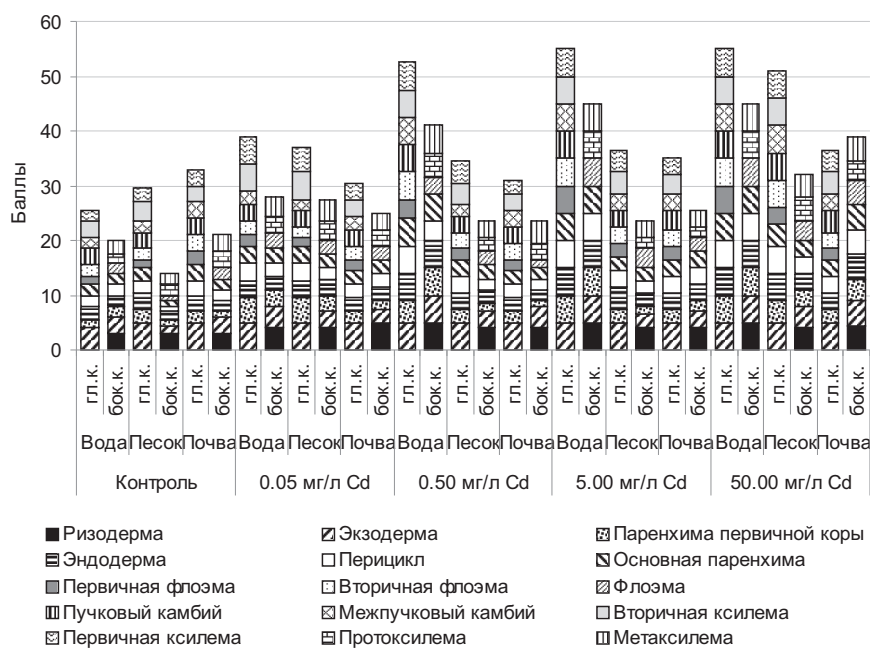


Рис. Суммарное содержание и распределение Cd по тканям главного и боковых корней фасоли обыкновенной в условиях разных сред произрастания

Уровень аккумуляции металлов в корнях фасоли, принадлежащих к разным морфологическим типам, неодинаков. Практически во всех вариантах на песчаном и почвенном субстрате, а также на водных растворах Cd содержание анализируемых химических элементов в тканях главного корня выше, чем в тканях боковых корней (см. рисунок). Разница между количественным содержанием металлов в этих органах может быть обусловлена рядом причин [7–11].

Во-первых, по сравнению с позже развивающимися боковыми корнями главный корень обладает большей поглощающей поверхностью. С учетом того, что количественное содержание металлов в тканях корня складывается не только за счет их непосредственного поступления из субстрата по радиусу корня, но и за счет вертикального транспорта по паренхиме первичной коры и ксилеме из нижележащих областей, главный корень, обладая хорошо выраженной, обширной паренхимой первичной коры, более высокоорганизованной проводящей системой и, соответственно, более протяженной поверхностью деятельной части, способен поглощать и накапливать в тканях анализируемого участка Zn, Cu и Cd количественно больше, чем боковые корни.

Во-вторых, причиной активизации метаболических явлений в тканях главного корня может являться процесс "зарождения" боковых корней, требующий усиленного притока веществ извне. Нами зафиксировано, что рядом с местом разрыва эндодермы примордием бокового корня содержание металлов в тканях центрального цилиндра (вплоть до первичной ксилемы) возрастает, а сам примордий аккумулирует максимально возможное их количество.

В-третьих, преобладание металлоионов в главном корне может быть связано с деятельностью боковых корней, которые массово образуются именно на анализируемом участке главного корня, а также характеризуются повышенной метаболической активностью в силу меньшего возраста.

В-четвертых, более развитая проводящая система главного корня обеспечивает возможность большего передвижения воды с растворенными в ней веществами к надземным частям растения, способствуя их развитию. Увеличение надземной фитомассы приводит к возрастанию сосущей силы, которая, действуя на главный корень, ускоряет транспорт веществ от поверхностных тканей к сосудам ксилемы. В свою очередь, форсированное освобождение поглощающей поверхности главного корня будет неизменно приводить к интенсификации его деятельности.

На водных растворах (кроме Cd) и в вариантах с внесением в почву 0,5 мг/л Cu и 1 мг/л Zn поглотительная активность главного и боковых корней фасоли практически сходна. Такое распределение металлов между морфологически разными типами корней обусловлено, с одной стороны, их низким содержанием в субстрате, физико-химические и микробиологические характеристики которого (почва) могут дополнительно снижать растворимость соединений и доступность составных элементов для поглощения растением, а с другой — замедлением темпов роста и развития надземной фитомассы вследствие разобщения вещественно-энергетических связей с корневой системой, происходящим на фоне последовательно возрастающих концентраций металлов в водной среде [12].

Гистохимический анализ поперечных срезов корневой системы выявил в ней ряд тканей, поглощающих и накапливающих ионы Zn, Cu и Cd наиболее активно. К тканям приоритетного улавливания металлов в главном корне относятся экзодерма, пучковый камбий, ксилема, в боковых корнях — ризодерма, экзодерма, ксилема (см. рисунок).

Причины преимущественного накопления анализируемых металлов в клетках ризодермы вполне очевидны: именно эта ткань является первой на пути их проникновения в корневую систему растения, и именно она, по сравнению с остальными тканями, обладает более развитой и более активной системой мембранных транспортных механизмов [13]. Непосредственный контакт тканей друг с другом обуславливает перемещение ионов Zn, Cu и Cd из ризодермы в экзодерму практически в неизменном количестве.

Высокая поглотительная способность пучкового камбия связана не только с интенсивно протекающими в его клетках метаболическими процессами, вызванными возрастной дифференциацией тканей, но и с его близостью к проводящим тканям растения, особенно к ксилеме, обладающей мощной аттрагирующей способностью. Значительное содержание металлов в структурах последней (клетки паренхимной обкладки, стенки сосудов, пасока) может быть предопределено расположением анализируемого участка у основания корня, "запас" элементов в котором создается благодаря их разнонаправленному транспорту.

По сравнению с вышеперечисленными тканями, наименьшее содержание металлов в корневой системе фиксируется в срединной и внутренней области паренхимы коры (главный и боковые корни), в первичной флоэме (главный корень) (см. рисунок). При этом распределение Zn, Cu и Cd по срезу коровой паренхимы у абсолютного большинства вариантов имеет градиентный характер: содержание металлов, максимум которого приходится на два-четыре внешних ряда клеток, постепенно снижается в центростремительном направлении. Отмеченная закономерность нарушается в вариантах с минимальными (в главном корне при 0,05 мг/л Cd и 1,0 мг/л Zn в песке, в боковых корнях при 0,5 мг/л Cu в воде) и высокими (в главном корне при 5,00 и 50,00 мг/л Cd в воде, в боковых корнях при 0,50–50,00 мг/л Cd в воде, в главном и боковых корнях при 500,0 мг/л Cu и 1000,0 мг/л Zn в воде) концентрациями металлов в субстрате, в результате чего окраска ткани становится однородной, что свидетельствует о равномерном распределении элементов по всей ее толще. Уточним, что если в первом случае (минимальные концентрации) кора может быть отнесена к тканям приоритетного накопления, то во втором (высокие концентрации) — значительное содержание металлов в паренхиме коры является лишь отражением общего высокого уровня токсикантов в анализируемом органе. Полученные нами данные вполне согласуются с представлениями о коре как основной ассимиляционной емкости корня, обладающей свойствами буфера, регулирующего транспортный поток веществ по растению [13] и, как мы видим, способного осуществлять свои функции только при невысоком содержании металлов в субстрате.

Как показано на рисунке, все остальные ткани корневой системы фасоли составляют промежуточную по содержанию Zn, Cu и Cd группу. Остановимся подробнее на особенностях аккумуляции металлов в этих тканях.

В наших исследованиях барьерная функция эндодермы выражена слабо, что, по-видимому, связано не только с действием на растение используемых концентраций металлов, но и с достаточно продолжительной экспозицией тест-объектов на металлосодержащих средах. В итоге нарушение функциональной активности эндодермы приводит к неограниченному поступлению металлов в центральный цилиндр и создает предпосылки для высокого уровня их накопления в этих тканях.

Содержание металлоионов в перицикле, как правило, невелико. Лишь высокие концентрации металлов в средах (1000,0 мг/л Zn и 50,0–500,0 мг/л Cu в воде и песке, 0,50–50,00 мг/л Cd в воде и 50,00 мг/л Cd в песке) обуславливают значительный их переход в клетки перицикла, одновременно замедляя или полностью останавливая процесс ветвления корневой системы [12]. По сравнению с главным корнем, уровень аккумуляции металлов в перицикле боковых корней понижен.

В характере распределения металлов между пучковым и межпучковым камбием также есть свои особенности. В вариантах с невысоким содержанием металлов в воде и песке (0,5 мг/л Cu в воде и 0,5–5,0 мг/л Cu в песке, 1,0–10,0 мг/л Zn в воде и песке, 0,05 мг/л Cd в воде и 0,05–0,50 мг/л Cd в песке) пучковый камбий

накапливает элементы интенсивнее, чем камбий межпучковый. Дальнейшее увеличение концентрации металлов в этих средах приводит к необратимому росту их содержания во всех тканях корня, устраняя частично или полностью существующее между камбиальными участками различие.

Кардинально иная ситуация складывается на почве. Именно невысокие концентрации Zn, Cu и Cd обуславливают относительно равномерное распределение химических элементов по камбию, а увеличение доли металлов в субстрате (за исключением Cu) сопровождается их активным накоплением в клетках пучкового камбия.

Отсутствует "единая линия" и в процессе аккумуляции металлов в проводящих тканях фасоли. В частности, если для боковых корней свойственно равномерное распределение ионов между прото- и метафлоэмой, то содержание Zn, Cu и Cd в первичной флоэме главного корня, как правило, ниже, чем во вторичной флоэме. Накопление металлов в элементах ксилемы главного и боковых корней в абсолютном большинстве вариантов сходно; в остальных случаях более поздние по времени заложения структуры ткани аккумулируют металлы интенсивнее ранних. В целом суммарное содержание металлов во флоэме зачастую ниже, чем в ксилеме.

На окрашенных дитизоном срезах главного и боковых корней хорошо видно, что за исключением ризодермы и экзодермы, для клеток которых свойственно одинаково высокое содержание металлов как в клеточных стенках, так и в протопластах, ионы Zn, Cu и Cd сконцентрированы, главным образом, в клеточных стенках. На преимущественное связывание металлов клеточными стенками указывают результаты не только гистохимического дитизинового метода [5; 14–16], но и родизонатного метода [17], рентгенфлуорисцентного анализа [18].

Протопласты клеток эндодермы и тканей центрального цилиндра (особенно паренхимы, расположенной вблизи крупных сосудов ксилемы), как правило, накапливают анализируемые металлы в большем количестве, чем клетки коровой паренхимы. Содержание химических элементов в протопластах, а также в стенках сосудов и пасоке ксилемы находится в прямо пропорциональной зависимости от их концентрации в субстрате.

Помимо существующих между вариантами различий в характере распределения и в уровне аккумуляции металлов в тканях на песчаном (0,05–50,00 мг/л Cd) и почвенном (5,00 и 50,00 мг/л Cd) субстратах в срединной области первичной коры главного корня нами зафиксировано отмирание отдельных клеток или значительно чаще — их групп. Возникающие полости пространственно разделены между собой живыми паренхимными клетками, организованными в радиально ориентированные тяжи.

В качестве главной причины этого явления классически называют рост корней в условиях затрудненной аэрации, когда образуемые растением полости служат резервуарами необходимого для дыхания тканей кислорода [19]. Но в связи с тем, что в эксперименте развитие полостей происходит только в вариантах с внесением в песчаный и почвенный субстрат одного элемента — Cd, с большей долей вероятности можно говорить об их образовании как о приспособительной реакции растения на действие высокотоксичного вещества [20]. Накапливаясь во внутрикорневых полостях и диффундируя из них в прикорневую область субстрата, молекулы кислорода могут принимать участие в реакциях окисления соединения Cd, снижая его негативное воздействие на рост и развитие растительного организма.

“Уникальность” действия Cd, широта диапазона его концентраций в условиях разных сред произрастания свидетельствуют, что на процесс образования полостей в структуре паренхимы первичной коры влияют не только химическая природа элемента и его концентрация в среде, но и физико-химические характеристики субстрата, в частности, обусловленная присутствием глинистых минералов и органического вещества его обменная емкость.

## Заключение

Таким образом, весомую роль в процессах накопления и распределения Zn, Cu и Cd по тканям корневой системы фасоли обыкновенной играют как внешние по отношению к растению факторы (физико-химические свойства среды произрастания, содержание металлов в среде, их химическая природа), так и внутренние, обусловленные особенностями самого растения (“видовая” потребность в поступающих веществах, морфофункциональная организация корня, степень выраженности донорно-акцепторных связей корня с надземными органами).

К тканям приоритетного улавливания и накопления Zn, Cu и Cd в главном корне можно отнести экзодерму, пучковый камбий, ксилему, а в боковых корнях — ризодерму, экзодерму, ксилему. Наименьшее содержание металлов фиксируется в срединной и внутренней области паренхимы коры главного и боковых корней, в первичной флоэме главного корня. Эндодерма, перицикл, основная паренхима главного и боковых корней, межпучковый камбий и вторичная флоэма главного корня, прото- и метафлоэма боковых корней составляют промежуточную по содержанию тяжелых металлов группу тканей.

Ионы Cd, Zn и Cu локализованы в симпласте тканей центрального цилиндра и в апопласте внешнего по отношению к нему кольца тканей. В случае значительного содержания металлов в среде произрастания их активное поступление в центральный цилиндр происходит и по апопласту, и по симпласту.

## Литература

- [1] Практикум по агрохимии / под ред. В.Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
- [2] Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I–IV групп / под ред. В.А. Филонова. Л.: Химия, 1988. 512 с.
- [3] Прохорова Н.В., Матвеев Н.М., Павловский В.А. Аккумуляция тяжелых металлов дикорастущими и культурными растениями в лесостепном и степном Поволжье. Самара: Изд-во “Самарский университет”, 1998. 131с.
- [4] Лебедева Г.Ф. Пособие по растениеводству для почвоведов. Зерновые и зерновые бобовые культуры: в 2 ч. М.: Изд-во МГУ, 1982. Ч. 2. 137 с.
- [5] Серегин И.В., Иванов В.Б. Передвижение ионов кадмия и свинца по тканям корня // Физиология растений. 1998. Т. 45. № 6. С. 899–905.
- [6] Воробьев Л.Н. Регулирование мембранного транспорта в растениях // Итоги науки и техники. Физиология растений. 1980. Т. 4. С. 1–77.
- [7] Колосов И.И. Поглощительная деятельность корневых систем растений. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 338 с.
- [8] Сытник К.М., Книга М.Н., Мусатенко Л.И. Физиология корня. Киев: Наукова думка, 1972. 356 с.

- [9] Нестерова А.Н. Действие тяжелых металлов на корни растений. 1. Поступление свинца, кадмия, цинка в корни, локализация металлов и механизмы устойчивости растений // Биологические науки. 1989. № 9. С. 72–86.
- [10] Трапезников В.К., Иванов И.И., Тальвинская Н.Г. Локальное питание растений. Уфа: Гилем, 1999. 260 с.
- [11] Физиология растений / под ред. И.П. Ермакова. М.: Издательский центр "Академия", 2007. 640 с.
- [12] Макарова Ю. В. Изменчивость морфометрических показателей фасоли обыкновенной при краткосрочном воздействии кадмия, цинка и меди // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. 2009. № 6 (72). С. 160–171.
- [13] Вахмистров Д.Б. Пространственная организация ионного транспорта в корне // 49-е Тимирязевские чтения. М.: Наука, 1991. С. 48.
- [14] Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. № 4. С. 606–630.
- [15] Башмаков Д.И. Аккумуляция тяжелых металлов некоторыми высшими растениями в разных условиях местообитания // Агрохимия. 2002. № 9. С. 66–71.
- [16] Кожевникова А.Д. Распределение никеля, кадмия, свинца и стронция в прорастающих зерновках кукурузы // VIII молодеж. конф. ботаников: тез. докл. СПб.: СПбГУТД, 2004. С. 127–128.
- [17] Серегин И.В. Кожевникова А.Д. Транспорт, распределение и токсическое действие стронция на рост проростков кукурузы // Физиология растений. 2004. Т. 51. № 2. С. 241–248.
- [18] Wierzbiska M., Antosiewicz D. How lead can easily enter the food chain a study of plant roots // Sci. Total Environ. Suppl. 1993. № 1. P. 423–429.
- [19] Березина Н.А., Афанасьева Н.Б. Экология растений. М.: Издательский центр "Академия", 2009. 400 с.
- [20] Эзау К. Анатомия семенных растений: в 2 кн. М.: Мир, 1980. 558 с.

Поступила в редакцию 15/VI/2010;  
в окончательном варианте — 15/VI/2010.



## CONCERNING THE DISTRIBUTION OF ZINC, COPPER AND CADMIUM IN THE ROOT SYSTEM OF KIDNEY BEAN UNDER DIFFERENT GROWTH MEDIA

© 2010 Ju.V. Makarova<sup>2</sup>

Using the histochemical dithizonic method the patterns of absorption, localization and translocation of Zn, Cu and Cd ions were studied in different morphological tissues of the kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) roots. These processes were also investigated in connection with the concentration and media composition parameters.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris L.*, root system, plant tissues, histochemical dithizonic method, Zn, Cu, Cd, concentration, growth media.

Paper received 15/VI/2010.

Paper accepted 15/VI/2010.

---

<sup>2</sup>Makarova Julia Vladimirovna (aconithum@mail.ru), the Dept. of Ecology, Botany and Environmental Protection, Samara State University, Samara, 443011, Russian Federation.