

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.03.01 Биология
Профиль подготовки Биохимия
Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему:

**«ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ»**

Студент Е.А. Кудрявцева Кудрявцева Елена Алексеевна

Руководитель С.А. Солдатов Солдатов С.А.

Нормоконтролер С.В. Клыченков Клыченков С.В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 18.06.24 № 14)

Заведующий кафедрой Г.А. Карпова Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично

(протокол заседания ГЭК от 26.06.24 № 7)

Секретарь ГЭК С.В. Клыченков Клыченков С.В.

Пенза, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Тяжелые металлы и формы их нахождения в окружающей среде.....	7
1.2 Поступление, транспорт тяжелых и аккумуляция металлов в растительном организме.....	10
1.3 Физиологическая роль цинка в растительном организме	13
1.4 Физиологическая роль меди в растительном организме.....	15
1.5 Физиологическая роль свинца в растительном организме	17
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	20
ГЛАВА 3. ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ЯРОВОЙ СОРТА «ЗЛАТА»	28
3.1. Действие тяжелых металлов на ростовые процессы и развитие пшеницы яровой сорта «Злата»	28
3.2. Изменение содержания пигментов при действии тяжелых металлов на растения пшеницы яровой сорта «Злата»	31
3.3. Действие тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза в растениях пшеницы яровой сорта «Злата»	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	39
ВЫВОДЫ	43
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	45

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Одной из важнейших проблем современного мира является загрязнение окружающей среды. В результате активного развития промышленности и транспорта все больше вредных веществ попадает в гидросферу, атмосферу и почву. В числе вредных веществ, попадающих в окружающую среду, особое место занимают тяжелые металлы. Наблюдение за тяжелыми металлами обязательно во всех средах, так как они относятся к особым загрязняющим веществам, затрагивающим все слои биосферы [13].

Тяжелые металлы попадают в окружающую среду в связи с несовершенными системами очистки. Большое количество тяжелых металлов из водной среды и атмосферы попадает в почву, загрязняя и отравляя её. Растения являются источником питания для человека и животных, поэтому усваивая тяжелые металлы из почвы, растения становятся опасным элементом биосистемы.

Проблема попадания тяжелых металлов в окружающую среду заключается в том, что они способны накапливаться в живых организмах. Особенностью этих металлов является то, что они практически не подвергаются разрушению и обладают длительным периодом полураспада, что позволяет им надолго входить в круговорот веществ. В отличие от органических загрязняющих веществ их невозможно удалить из биосферы естественными химическими или биологическими процессами.

Еще одной проблемой серьезного влияния тяжелых металлов является их неравномерное распределение в природных средах. В целом их содержание в окружающей среде не высоко, но на территориях, где происходит интенсивное развитие и активная работа промышленных предприятий, резкое увеличение количества автотранспорта и ежегодное внесение в почву высоких доз минеральных удобрений содержание тяжелых металлов в гумусовой оболочке превышает их природное содержание в сотни

и тысячи раз.

При повышении содержания тяжелых металлов в окружающей среде в первую очередь происходит загрязнение почвы, что отрицательно сказывается на состоянии биосферы [1]. Во-первых, при накоплении в почве тяжелых металлов в больших количествах происходят изменения биологических свойств почвы. При загрязнении почвы тяжелыми металлами происходит снижение активности почвенных ферментов, происходит изменение численности определенных групп микроорганизмов, что приводит к изменению разнообразия почвенной микрофлоры. Также тяжелые металлы могут выступать как мутагенный фактор. Во-вторых, загрязнение почвы тяжелыми металлами приводит к изменению химических свойств почвы, например, pH среды, что может приводить к уменьшению плодородия почвы. В-третьих, тяжелые металлы оказывают сильное негативное влияние на пищевые цепи. Из почвы пищевые металлы усваиваются растениями, которые затем потребляются в пищу животными, в том числе человеком. Потребление в пищу загрязненных тяжелыми металлами растений может привести к формированию мутаций и заболеваний. В-четвертых, повышенные концентрации тяжелых металлов оказывают негативное воздействие на сельское хозяйство. Они снижают всхожесть растений и отравляют растительные организмы путем аккумуляции. Это приводит к снижению урожайности сельскохозяйственных культур. Потребление загрязненных растений в пищу приводит к отравлению сельскохозяйственных животных, в результате чего происходит снижение количества и качества животноводческой продукции. Тяжелые металлы, присутствующие в продуктах питания даже в следовых количествах, представляют угрозу для здоровья человека. Также потребление загрязненных тяжелыми металлами растений и животных приводит к росту заболеваемости не только среди животных, но и среди человека. Из-за значительного негативного воздействия тяжелых металлов на биосферу, важно проводить исследования влияния различных концентраций этих

металлов. Это поможет увеличить информированность общественности и найти способы уменьшить негативное влияние тяжелых металлов.

Повреждающее действие повышенных концентраций тяжелых металлов проявляется в нарушении ростовых процессов и процессов развития, ингибировании процесса фотосинтеза, нарушении транспорта ассимилятов, изменении водного обмена и транспирации, а также в нарушении поступления и распределения других минеральных элементов [5].

Проблема действия тяжелых металлов на растительные организмы состоит в том, что они участвуют в разных физиологических процессах: энергетическом обмене, являясь необходимыми микроэлементами. К таким микроэлементам относят Mn, Cu, Zn, Mo и другие. Свинец не относится к микроэлементам растения, но в низких концентрациях способен оказывать стимулирующее действие на их рост и развитие, тогда как повышенные концентрации свинца в окружающей среде могут приводить к нарушению метаболических процессов растения. По степени токсичности для живых организмов тяжелые металлы можно расположить в следующем порядке: Hg > Cu > Zn > Ni > Pb > Cd > Cr > Sn > Fe > Mn > Al [12].

Изучая, как тяжелые металлы могут нанести вред растениям, важно тщательно оценивать, как растения реагируют на разные концентрации каждого металла, и понять, как эти металлы могут влиять на разные виды растений.

Цель и задачи исследований. Целью исследования является изучение действия тяжелых металлов на рост и развитие пшеницы яровой сорта «Злата» (*Triticum aestivum* L.), относящейся к семейству злаковые (*Poaceae*, *Gramineae*).

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- выяснить возможность стимулирования ростовых процессов и развития растений пшеницы при добавлении в среду выращивания растворов солей тяжелых металлов;

- выяснить возможность ингибирования ростовых процессов и развития растений пшеницы при добавлении в среду выращивания растворов солей тяжелых металлов;
- определить влияние действия тяжелых металлов на содержание пигментов в растениях пшеницы;
- исследовать влияние действия тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза в растениях пшеницы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Тяжелые металлы и формы их нахождения в окружающей среде

Тяжёлые металлы выделяются среди прочих элементов благодаря своему токсическому влиянию на растительные организмы. Тяжелые металлы – это химические элементы с плотностью более 5 г/см³ и атомной массой свыше 40 Да. По токсическому влиянию на растения тяжёлые металлы делятся на две категории:

1. Элементы, необходимые в малых концентрациях для жизнедеятельности растений (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn), которые могут стать токсичными при значительном увеличении их содержания в почве и растениях;
2. Элементы, не участвующие в метаболизме растений (Cd, Hg, Pb, V), токсичные даже в незначительных концентрациях [23].

Тяжелые металлы попадают в различные компоненты окружающей среды (почву, воду, воздух) в результате природных и антропогенных процессов.

Природные источники тяжелых металлов. В ходе ряда исследований были зафиксированы различные природные источники тяжелых металлов.

Основным естественным источником загрязнения тяжелыми металлами является выветривание горных пород [24].

Кроме того, источниками загрязнения также могут быть извержения вулканов, брызги морской соли, лесные пожары, биогенные источники и частицы почвы, переносимые ветром, космическая пыль.

Антропогенные источники тяжелых металлов. Деятельность человека является основной причиной загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами.

Промышленные предприятия, горнодобывающие и металлургические процессы, активное развитие транспорта, процессы энергетического сгорания топлива, выбросы, связанные с отоплением домов в муниципальном и домашнем секторе, сельское хозяйство и сточные воды являются антропогенными факторами, которые способствуют попаданию загрязняющих веществ в различные части экосистемы.

Серьезной проблемой является воздействие тяжелых металлов в результате потребления загрязненных овощей. Повышенное содержание некоторых элементов обнаружено, в частности, в овощах, выращиваемых вблизи промышленных предприятий и оживленных дорог, а также в культурах, подвергающихся воздействию городских и сельскохозяйственных сточных вод.

Различные отрасли промышленности, а также дорожное движение оказывают существенное влияние на загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами. Основными источниками загрязнения свинцом почв, растений и воздуха являются выхлопные газы автотранспорта. В течение многих лет свинец добавлялся в бензин в виде тетраэтила свинца, который выделялся при работе механического двигателя.

Многочисленные исследования, проведенные в последние годы, выявили большую долю уличной пыли в загрязнителях городских почв вблизи транспортных магистралей. Тяжелые металлы поступают из выхлопных газов автомобилей; их выброс также связан с изнашиваемыми деталями автомобиля. Zn выделяется от износа шин и оцинкованных деталей, таких как топливные баки. Изнашивание тормоза является наиболее важным источником выбросов Cu и Pb. Pb также выделяется из изношенных металлических сплавов в двигателе [28].

Среди сельскохозяйственных источников тяжелых металлов наиболее распространены удобрения, пестициды сточные воды. Чрезмерное применение удобрений в течение длительного времени, приводящее к накоплению тяжелых металлов в сельскохозяйственных почвах, снижает

плодородие почвы и, как следствие, снижает рост и продуктивность растений. Чрезвычайно сложно восстановить почвенную среду после загрязнения почвы тяжелыми металлами. Cu, Zn и Cd обладают более высоким потенциалом накопления в сельскохозяйственных почвах.

Промышленные сточные воды также являются важным источником тяжелых металлов. Орошение сточными водами является распространенной практикой в мире, а в некоторых мегаполисах сточные воды подвергаются биологической очистке и используются для орошения в сельском хозяйстве. В последние годы опубликовано много статей о почвах, орошаемых сточными водами, загрязненными тяжелыми металлами. Орошение сточными водами изменяет физические и химические свойства почвы и приводит к поглощению тяжелых металлов растениями, в основном овощами. Овощи, выращенные в сточных водах, накапливают более высокие концентрации тяжелых металлов, чем овощи, выращенные в грунтовых водах [30].

После попадания в окружающую среду токсичность и доступность для растительных организмов определяется формой нахождения тяжелых металлов, поскольку растения могут поглощать химические элементы только в определенных формах.

Присутствие тяжелых металлов на поверхности воды может быть следствием естественной или антропогенной деятельности. Причинами загрязнения воды природными источниками является взаимодействие воды с горными породами или взаимодействие воды с почвой. Тяжелые металлы в почве могут находиться в разных формах: либо в виде свободных ионов, либо в виде комплексных соединений с органическими и неорганическими соединениями [18].

В атмосферном воздухе тяжелые металлы присутствуют в форме органических и неорганических соединений в виде пыли и аэрозолей.

Тяжелые металлы в почве могут находиться в разных формах. Для поглощения растением тяжелых металлов необходимо, чтобы металлы были

в доступной форме. В почве тяжелые металлы могут быть обнаружены в виде гидроксидов, оксидов, сульфидов, сульфатов, фосфатов, силикатов и органических соединений.

Таким образом, деятельность человека является основным источником тяжелых металлов в окружающей среде. Сильное негативное влияние тяжелых металлов на окружающую среду обусловлено в основном формой их нахождения.

1.2 Поступление, транспорт тяжелых и аккумуляция металлов в растительном организме

В результате активного развития транспорта, промышленности и т.д. происходит повышение концентрации тяжелых металлов в окружающей среде. Это приводит к более интенсивному поглощению этих металлов растениями. Поглощение и накопление сельскохозяйственными растениями представляет собой основной путь поступления потенциально опасных для здоровья токсичных металлов в пищу человека и животных [10].

Тяжелые металлы находятся в почве преимущественно в нерастворимой форме, которая является недоступной для растительных организмов. Растения могут увеличивать свою биодоступность, выделяя различные корневые экссудаты, которые могут изменять pH ризосферы и увеличивать растворимость тяжелых металлов [4]. Биодоступный металл сорбируется на поверхности корня и проходит через клеточную мембрану в клетки корня. Поглощение тяжелых металлов корнями происходит преимущественно двумя путями: апопластным путем (пассивная диффузия) и симпластическим путем (активный транспорт против градиентов электрохимического потенциала и концентрации через плазматическую мембрану). Обычное симпластическое поглощение тяжелых металлов представляет собой энергозависимый процесс, опосредованный переносчиками ионов металлов или комплексообразователями [2].

В клетках корня ионы тяжелых металлов могут образовывать комплексы с различными хелаторами, например с органическими кислотами. Эти образующиеся комплексы, включающие осадки карбонатов, сульфатов и фосфатов, затем иммобилизуются во внеклеточном пространстве (апопластические клеточные стенки) или внутриклеточном пространстве (симпластические компартменты, такие как вакуоли). Ионы металлов, связанные в вакуолях, могут транспортироваться в стелу и через корень поступать в поток ксилемы, а затем по сосудам ксилемы поступать в побеги. Они транспортируются через апопласт или симпласт и распределяются в листьях, где ионы связываются во внеклеточных компартментах (клеточных стенках) или вакуолях растения, предотвращая тем самым накопление свободных ионов металлов в цитозоле [19].

Поглощение и транслокация тяжелых металлов в растениях опосредуется различными молекулами, в том числе переносчиками ионов металлов и комплексообразователями. Эти специализированные транспортеры (белки каналов) или H^+ -связанные транспортные белки расположены в плазматической мембране корневой клетки и необходимы для поглощения ионов тяжелых металлов из почвы. Они могут переносить определенные металлы через клеточные мембраны и обеспечивать приток и отток металлов от корней к побегам. На основании гомологии последовательностей идентифицированные к настоящему времени переносчики металлов были разделены на несколько семейств, таких как ZIP, HMA, MTP и NRAMP.

Аккумуляция тяжелых металлов растениями. В зависимости от способности накапливать тяжелые металлы растения делят на три группы:

- 1) Гипераккумуляторы – это растения, которые могут переносить и накапливать в своих побегах чрезвычайно высокие концентрации металлов.
- 2) Аккумуляторы – это растения, которые накапливают металлы, но не до экстремальных уровней, наблюдаемых в гипераккумуляторах.

3) Исключатели – растения, ограничивающие транслокацию тяжелых металлов, не допускающие их попадания в надземную часть (побеги). Могут накапливать как низкие, так и высокие концентрации тяжелых металлов в корнях.

Количество металла в корнях и побегах зависит от его уровня в почве, типа растения, стадии его роста, времени года и других факторов [11].

Распределение тяжелых металлов в растении. В отличие от накопления характер распределения тяжелых металлов по органам и тканям в большинстве случаев не зависит от эдафических и сезонных факторов и определяется, главным образом, свойствами металлов и видовыми особенностями растений. Большинство произрастающих на Земле видов растений являются исключателями.

Виды растений, а также сорта могут заметно различаться по распределению тяжелых металлов по органам, что связано с особенностями поглощения ионов металлов корнями и их перемещения из корней в побеги [15].

Большинство видов растений накапливает тяжелые металлы (кадмий, свинец, цинк) преимущественно в корнях. В тканях корня большая часть тяжелых металлов локализована в ризодерме, коре и эндодерме. Структурные особенности клеток этих тканей ограничивают поступление токсичных ионов в сосуды ксилемы, а, следовательно, и в надземные органы растения. При этом эндодерме с поясками Каспари отводится основная барьерная роль в транспорте тяжелых металлов в корне. В перицикл и сосуды ксилемы металлы поступают лишь при высоких их концентрациях в почве. Слабо изучено проникновение тяжелых металлов в меристематические ткани корня. Хотя с помощью радиографического и спектрометрического анализов было обнаружено присутствие изотопов Cd и Zn в апикальной меристеме корней пшеницы.

Сведений о распределении тяжелых металлов в тканях листьев и стебля растений сравнительно немного. Выявлено преимущественное их накопление в клетках эпидермиса и довольно низкое – в мезофилле.

Таким образом, тяжелые металлы могут попадать в растительный организм двумя путями: пассивным и активным. Слабо изучено распределение тяжелых металлов в растении, но большое их количество накапливается в корне.

1.3 Физиологическая роль цинка в растительном организме

Цинк является незаменимым микроэлементом и участвует в разных физиологических процессах в растительном организме. Цинк поступает в растения в виде иона Zn^{2+} . В растениях он может находиться либо в форме свободного иона, либо образует комплексы с различными органическими соединениями.

Его содержание в растениях составляет в среднем 0,003% на 1 кг сухой массы [26].

Цинк играет важную регуляторную роль, так как входит в составе более 300 ферментов всех шести классов (алкогольдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, супероксиддисмутаза и другие). Это единственный элемент, обнаруженный во всех шести классах ферментов (лиазы, трансферазы, гидролазы, изомеразы, оксидоредуктазы и лигазы). Цинк влияет на активность, структурную целостность и сворачивание многочисленных белков [30].

Более того, цинк важен для ряда физиологических функций растений, таких как регулирование гормонов (например, выработка триптофана, который является предшественником индолуксусной кислоты) и отправка сигналов через митоген-активируемые протеинкиназы. Одновременно ионы Zn могут инактивировать белки, присоединяясь к их функциональным

группам или вытесняя другие катионы из мест связывания, тем самым уменьшая разнообразные вредные воздействия на растительные клетки.

Важным является участие цинка в процессе фотосинтеза, поскольку он активирует фермент карбоангидразу, которая катализирует взаимное превращение CO_2 и HCO_3^- .

Цинк участвует в синтезе гормонов растений – ауксинов и синтезе витаминов, поэтому при своевременном добавлении в среду выращивания цинка, происходит стимулирование роста растения [26].

Чрезмерное количество цинка оказывает негативное действие на рост и развитие растений. Повышенные концентрации ингибируют рост корней и побегов в связи с влиянием цинка на деление клеток. Общие видимые симптомы отравления цинком проявляются в виде увядания, хлороза, некроза старых листьев.

Цинк в повышенных концентрациях может сильно угнетать процесс фотосинтеза, поскольку он влияет на синтез фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов). Кроме того, основной фермент цикла Кальвина рибулозобисфосфаткарбоксилаза чувствительна к действию цинка, поэтому ее активность снижается в присутствии цинка в повышенных концентрациях. Также снижается активность фотосистемы II и нарушается перенос электронов.

Под действием высоких концентраций цинка в растениях увеличивается производство свободных радикалов, в результате чего растение переходит в состояние окислительного стресса. Ионы цинка индуцируют перекисное окисление липидов, что приводит к нарушению структуры мембран.

Дефицит цинка в растениях вызывает накопление редуцирующих сахаров, небелковых соединений азота и органических кислот. Нарушается фосфорный обмен. Содержание сахарозы и крахмала уменьшается, а синтез белка нарушается. Кроме того, митотическая активность клеток корневой меристемы резко снижается, нарушается растяжение и дифференциация

клеток. Число хромосомных aberrаций также увеличивается. На листьях при недостатке цинка замедляется деление клеток мезофилла, что приводит к морфологическим изменениям [9].

Таким образом, цинк является важным микроэлементом растений, который в небольших количествах обладает стимулирующим действием на ростовые процессы и развитие. Однако в повышенных концентрациях он может оказывать сильное ингибирующее действие на важные физиологические процессы растительного организма. Дефицит цинка также негативно влияет на физиологическую деятельность растения.

1.4 Физиологическая роль меди в растительном организме

Медь – один из важнейших микроэлементов, необходимый для поддержания нормального роста и развития растений. Она является важным окислительно-восстановительным металлом, который участвует во многих физиологических процессах в растительном организме. Поступает в растения в виде иона Cu^{2+} , но также может существовать в виде иона Cu^{+} . Обладает способностью к обратимому окислению и восстановлению.

В растениях в среднем содержится меди 0,0002%, или 0,2 мг на 1 кг сухой массы. Основным аккумулятором меди в растительном организме является белок пластоцианин.

В растительном организме медь принимает участие в большом количестве важных физиологических процессах. Она способна выполнять регуляторную функцию, так как является структурным элементом ферментов. Ионы меди участвуют в процессе фотосинтеза, а именно, в переносе электронов, поскольку медь содержится в белке пластоцианине, который участвует в переносе электронов с фотосистемы II к фотосистеме I. Медь выполняет важную роль в митохондриальном дыхании, реакциях на окислительный стресс и передаче гормональных сигналов. Ионы Cu

выступают как кофакторы во многих регуляторных белках (супероксиддисмутаза, цитохромоксидаза и другие) [27].

Кроме того, медь имеет важную роль в процессе азотистого обмена. В данном процессе медь выполняет регуляторную функцию, так как входит в состав основных ферментов азотистого обмена. Она активирует работу фермента нитритредуктазы. Нитритредуктаза осуществляет восстановления нитритов до аммиака. Она улучшает процесс симбиотической и несимбиотической азотфиксации в результате активного ее влияния на синтез леггемоглобина и других ферментов. Медь также улучшает усвоение азота почвы и удобрения.

Медь является физиологически важным элементом, если содержится в растениях в необходимом количестве, но при избыточном, либо недостаточном количестве, медь обладает токсическим эффектом и нарушает нормальное протекание многих важных физиологических процессов.

При попадании меди в растительный организм в большом количестве, происходит отравление растения. В первую очередь отравление определяется визуально: происходит сильное угнетение роста побега и корней растения, листья теряют нормальный цвет, обесцвечиваются, происходит хлороз и некроз листьев.

Избыток Cu нарушает состав мембран хлоропластов и тилакоидов, что может вызвать окислительный стресс в клетках растений и снизить содержание фотосинтетических пигментов и переносчиков электронов, тем самым ингибируя перенос электронов при фотосинтезе. При повышенном содержании меди в растении происходит значительное снижение содержания фотосинтетических пигментов, таких как хлорофилл а, хлорофилл b и каротиноиды. Cu также играет важную роль в транспорте электронов, опосредованном фотосистемой II, который участвует в фотолизе молекул воды в фотосинтезирующих клетках. Однако высокие концентрации Cu могут влиять на эффективность светособирающего комплекса ФС II.

Токсическим эффектом обладают окислительно-восстановительные свойства меди. При переходе меди из Cu^{2+} в Cu^{+} и наоборот происходит образование высокотоксичных гидроксильных радикалов, что приводит к повреждению липидов, в результате чего нарушается целостность биологических мембран. Также происходит повреждение ДНК, белков и других биомолекул [28].

У растений с дефицитом Cu наблюдается изменение экспрессии ряда генов и активация морфологических изменений, таких как архитектура корней и листьев. Типичные симптомы дефицита меди сначала появляются на кончиках молодых листьев, а затем распространяются вниз по краям листьев. Листья могут быть скрученными или деформированными и проявлять хлороз или даже некроз [31].

Дефицит меди негативно сказывается на интенсивности фотосинтеза, поскольку происходит нарушение транспорта электронов фотосистемы I из-за уменьшения образования белка пластоцианина [7]. Этот белок является мишенью при снижении уровня меди в растении, так как большее количество меди содержится именно в нем. При дефиците меди происходит нарушение работы регуляторных белков, что приводит к нарушению световых и темновых реакций фотосинтеза, в которых участвуют ферменты.

Таким образом, медь является незаменимым элементом растительного организма для поддержания его нормального роста и развития. Медь необходима растениям в нормальном количестве, иначе при избытке или дефиците данного металла происходит нарушение таких важных физиологических процессов как фотосинтез, биосинтез пигментов и т.д., что приводит к значительному замедлению роста и развития растения.

1.5 Физиологическая роль свинца в растительном организме

Среди тяжелых металлов свинец является потенциальным загрязнителем, который легко накапливается в почвах и отложениях. В

отличии от цинка и меди, свинец не является микроэлементом растительного организма, однако он легко усваивается и накапливается в различных частях растений. Поступает в растения в виде иона Pb^{2+} , в таком же виде содержится в растении. Поглощение свинца растениями регулируется pH, размером частиц и емкостью катионного обмена почвы, а также корневым экссудатом и другими физико-химическими параметрами.

В невысоких концентрациях свинец может обладать стимулирующим действием на рост и развитие, содержание в листьях хлорофилла и интенсивность фотосинтеза. Однако свинец в повышенных концентрациях обладает сильным токсическим действием на растительные организмы.

Визуальными неспецифическими симптомами токсичности свинца являются быстрое торможение роста корней, задержка роста растения и хлороз.

Попадая внутрь клеток даже в небольших количествах, Pb оказывает широкий спектр неблагоприятных воздействий на физиологические процессы. Фитотоксичность свинца приводит к угнетению активности ферментов, нарушению минерального питания, водному дисбалансу, изменению гормонального статуса, изменению проницаемости мембран, нарушению процесса фотосинтеза. Эти изменения приводят к нарушению нормальной физиологической деятельности растения. При высоких концентрациях Pb в конечном итоге может привести к гибели клеток.

Повышенные концентрации свинца обладают сильным угнетающим действием на регуляторные процессы растительного организма, так как ионы Pb реагируют с группами $-SH$ и блокируют группы $-COOH$, что приводит к снижению активности фермента [29]. Свинец образует тиол с группой $-SH$ цистеина, а также образует комплексы с фосфатными группами. Ингибирование металлоферментов, по-видимому, связано с вытеснением основного металла ионом свинца. Свинец также является катализатором образования активных форм кислорода, что приводит к развитию окислительного стресса в растениях. Ионы Pb индуцируют перекисное

окисление липидов, снижают уровень насыщенных жирных кислот и повышают содержание ненасыщенных жирных кислот в мембранах некоторых видов растений.

Процесс фотосинтеза чувствителен к повышению концентрации свинца, поскольку при влиянии высоких концентраций ионов Pb происходит искажение ультраструктуры хлоропластов, угнетения синтеза фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) [21], затруднения транспорта электронов, ингибирования активности ферментов цикла Кальвина, а также дефицит CO₂ в результате закрытия устьиц.

Высокие концентрации свинца ингибируют процесс дыхания. Это связано с влиянием свинца на поток электронов через систему транспорта электронов и разобщением окислительного фосфорилирования. Однако при влиянии более низких концентраций происходила стимуляция процесса дыхания, поскольку Pb вызывал увеличение содержания АТФ, а также увеличение соотношения АТФ.

Токсичность свинца подавляет прорастание семян и замедляет рост рассады. Pb снижает процент всхожести, индекс всхожести, длину корня/побега, индекс толерантности и сухую массу корней и побегов.

Корни растений быстро реагируют на поглощение Pb за счет снижения скорости роста и изменения характера ветвления. Снижение роста корней при токсичности Pb происходит в результате ингибирования деления клеток в кончиках корней. Влияние высоких концентраций нитрата Pb приводит к нарушению деления клеток, хромосомным перестройкам и нарушениям митоза.

Таким образом, свинец является очень токсичным элементом для растений. В небольших концентрациях он способен оказывать стимулирующее действие на рост и развитие растений, но его повышенные концентрации сильно ингибируют ключевые физиологические процессы в растительном организме

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования была выбрана пшеница мягкая яровая сорта «Злата» (*Triticum aestivum* L.).

Ботаническое описание и биологические особенности пшеницы мягкой. Пшеница (*Triticum*) – род травянистых растений, в основном однолетних, семейства Злаковых, или Мятликовых (*Poaceae*) подсемейства Мятликовидные (*Pooideae*). Пшеница мягкая является наиболее распространенным видом и одной из основных продовольственных культур, как в мире, так и в России.

Пшеница мягкая является растением длинного дня, представлена озимыми и яровыми формами.

Пшеница мягкая имеет мочковатая **корневую систему**. Растение пшеницы обычно имеет два вида корней. Сначала развиваются первичные (зародышевые корни). Этих корней обычно пять, они тонкие, с тонкими боковыми ветвями. По мере развития растений зародышевые корни обычно отмирают и заменяются более постоянными вторичными (придаточными) корнями. Зародышевые корни засыхают примерно через 30 дней после появления всходов.

Стебель. Стебель яровой пшеницы прямостоячий, цилиндрический, его высота около 30-200 м. У мягкой пшеницы стебель полый, гладкий. На стебле находится около 5-7 узлов. Узлы чаще всего неопушенные, но могут быть и опушенные. Длина междоузлий уменьшается вниз по стеблю. Самым длинным междоузлием является последнее, которое несет колос.

Лист развивается на каждом узле. Листья расположены на чередующихся сторонах стебля и пронумерованы таким образом, что все листья с четными номерами находятся на одной стороне растения, и каждый лист расположен под углом 180° к предыдущему и следующему. Структура листа в основном состоит из влагалища и листовой пластинки, которые формируются из отдельных меристем, лигулы и пары ушек у основания

пластинки. Листовая пластинка – это линейная, сплюснутая, с параллельными жилками часть листа, которая является типичной для семейства Злаки. Основание листьев на стебле утолщено из-за соединения влагалища и пластинки, образуя твердый узел или пеньвинус. Положение самого верхнего листа (вертикальное, полунаклонное или наклонное) является важным признаком, так как играет ведущую роль в скорости метаболической ассимиляции и, следовательно, продуктивности растения.

Соцветие. Соцветие пшеницы – колос, имеет длину около 5-7 см. Единица колоса – это колосок, уменьшенный модифицированный побег, систематически расположенный и распределенный вдоль центральной зигзагообразной оси. Колоски расположены на чередующихся сторонах центральной оси, что придает ей зигзагообразный вид. У пшеницы колоски сидячие. Колос делится на 15-30 колосков. Колос может быть плотным или рыхлым, в зависимости от количества колосков.

Плодом пшеницы является зерновка. Зерно пшеницы – это маленький, сухой, односемянный плод с тонким плотным покрытием, эллиптической или овальной формы. Зерно имеет длину 3-8,5 мм и диаметр 3-5 мм. На верхушке зерновок имеется хохолок, представляющий собой тонкие одноклеточные волоски. Хохолок ясно выражен, консистенция мучнистая, полустекловидная, стекловидная.

Отношение к теплу. Мягкая пшеница гораздо меньше восприимчива к высоким температурам, чем другие злаки. Для каждой фазы развития пшеницы необходим свой температурный диапазон, например, когда происходит налив зерна оптимальная температура составляет примерно 15-20°C. В фазу колошения и цветения, когда пшеница формирует колоски, оптимальная температура составляет примерно 20-25°C.

Отношение к морозам. Растения пшеницы мягкой яровой способны переносить заморозки до -7°C. Озимая форма пшеницы мягкой обладает более высокой морозоустойчивостью, чем яровая форма и выдерживает температуру -16...-18°C в зоне узла кушения.

Отношение к влаге. При том, что мягкая пшеница устойчива к высоким температурам, она очень требовательна к влаге. Чтобы семена мягкой пшеницы начали прорасть, необходимо, чтобы обеспечение влагой было достаточным. Самая высокая потребность в воде у пшеницы возникает во время её перехода в стадию кущения. Если влаги недостаточно, это может привести к увеличению количества бесплодных цветков и образованию недоразвитого зерна. Тем не менее, избыточное увлажнение может вызвать гниение корневой системы и способствовать полеганию растений.

Отношение к засухе. Пшеница мягкая довольно засухоустойчива. Больше всего засуха влияет на пшеницу в период всходов. Она довольно хорошо переносит почвенную засуху, но воздушная засуха оказывает большое негативное влияние на растения пшеницы.

Отношение к почве. Мягкая пшеница очень требовательна к состоянию почвы. Почва должна быть плодородной и обладать хорошей структурой. Более высокий урожай получает при возделывании мягкой пшеницы на черноземах и каштановых почвах. Малопригодными для возделывания мягкой пшеницы являются легкие песчаные и тяжелосуглинистые почвы. Заболоченные, переуплотненные и засоленные почвы являются совершенно непригодными для выращивания пшеницы мягкой.

Ботаническая характеристика и особенности яровой пшеницы.

Яровая пшеница – самоопыляющаяся культура. Яровая пшеница развивается медленнее, чем озимая и больше подвержена угнетению сорняками.

Отношение к температуре. Наиболее оптимальной температурой для прорастания яровой пшеницы является 12-15°C. Холодостойкость пшеницы в целом невысокая, но при появлении всходов на поверхности она еще больше снижается.

Отношение к свету. Яровая пшеница является растением длинного дня. Период вегетации 100-120 дней. Длинный день ускоряет образование колоса, короткий, наоборот, задерживает.

Отношение к влаге. Пшеница мягкая в целом требовательна к влаге, особенно ее яровая форма. Это обусловлено недостаточным развитием корневой системы. Достаточное количество влаги необходимо для успешного прорастания семян. В период от начала кушения до момента колошения растение испытывает пик роста биомассы и потребляет максимальное количество воды. Отсутствие или недостаток воды в этот критический период приводит к ослаблению кушения и к снижению урожайности.

Отношение к питательным веществам в почве. Также в связи с недостаточным развитием корневой системы у яровой пшеницы наблюдается недостаток минеральных веществ, поэтому она очень требовательна к плодородию почвы и внесению удобрений.

Ботаническая характеристика и особенности сорта «Злата».

Злата – сорт яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.).

Сорт выведен специалистами ГНУ МосНИИСХ «Немчиновка» и Рязанского НИИСХ путем селекционного отбора из гибридной популяции F4. В 2009 он был внесен в Госреестр селекционных достижений. Включен в Госреестр по Северному (1), Северо-Западному (2), Центральному (3), Волго-Вятскому (4) и Средневолжскому (7) регионам.

Растение относится к группе сортов *lutescens*, которая отличается неопушенным колосом и красным зерном. Растение средней длины. Куст полупрямостоячий. Лист зеленый, по ширине от промежуточного до узколистного. Колос цилиндрический, белый, плотный, по длине от среднего до длинного, с короткими остевидными отростками. Колосковая чешуя с сильно выраженной нервацией, зубец средней длины, прямой, плечо средней ширины, скошенное. Зерно красное, полуудлиненной формы, бороздка средней глубины.

Сорт среднеранний, вегетационный период 75-96 дней. Среднезасухоустойчив, характеризуется высокой устойчивостью к полеганию. Средняя урожайность в регионах допуска – 30,2 ц/га, на уровне стандартов. Хлебопекарные качества на уровне хорошего филлера. Сила муки 250-350 е.а., содержание клейковины в муке до 35-38%. Сорт восприимчив к бурой ржавчине и септориозу.

В ходе работы были проведены лабораторные опыты. Все опыты проводились в нормальных условиях без действия стрессоров.

Варианты опыта:

1. Контроль – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде в нормальных условиях.
2. Опыт 1а – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде с добавлением сульфата цинка концентрацией 10^{-3} в нормальных условиях.
3. Опыт 1б – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде с добавлением сульфата цинка концентрацией 10^{-5} М в нормальных условиях.
4. Опыт 2а – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде с добавлением азотнокислого свинца концентрацией 10^{-3} М в нормальных условиях.
5. Опыт 2б – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде с добавлением азотнокислого свинца концентрацией 10^{-5} М в нормальных условиях.
6. Опыт 3а – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде с добавлением сульфата меди концентрацией 10^{-3} М в нормальных условиях.

7. Опыт 3б – проращивание семян пшеницы яровой сорта «Злата» и последующее выращивание проростков на дистиллированной воде с добавлением сульфата меди концентрацией 10^{-5} М в нормальных условиях.

Условия проведения опытов: проращивали семена и выращивали проростки пшеницы яровой сорта «Злата» на дистиллированной воде (контроль) и растворах солей (опыт) в течение 10 дней. Проростки выращивались в нормальных условиях, при естественном освещении. Поливы осуществлялись по мере потребления жидкости растениями (раз в 2-3 дня).

Тяжелые металлы вносились в питательную среду в форме солей (ZnSO_4 ; CuSO_4 ; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) в концентрациях 10^{-3} и 10^{-5} М для выяснения их стимулирующего и ингибирующего действия на проростки пшеницы яровой сорта «Злата».



Рисунок 1. Пробная постановка опыта

Методы измерения исследуемых показателей:

Для выявления действия тяжелых металлов на ростовые процессы и развитие растений проводились измерения длины побега и корня, а также фиксировались интенсивность развития побега и корневой системы у проростков пшеницы.

Для определения содержания основных пигментов фотосинтетического аппарата растений применялась следующая схема опыта:

1. Из проростков пшеницы яровой сорта «Злата» готовилась ацетоновая вытяжка – навеску растительного материала растирали в ступке с небольшим количеством 80% ацетона.
2. Полученную вытяжку после небольшого настаивания фильтровали в колбу Бунзена, соединенную с насосом Комовского.
3. Полученные экстракты переносили в колбу на 50 мл и доводили объем чистым растворителем (80% ацетоном).
4. Оптическая плотность определялась на спектрофотометре при соответствующей длине волны (для хлорофилла *a* – 663 нм, для хлорофилла *b* – 646 нм, для каротиноидов – 470 нм).
5. Содержание пигментов определялось по следующей формуле:

$$F = \frac{c * V}{1000 * P}$$



Рисунок 2. Ацетоновая вытяжка с суммой зеленых и желтых пигментов

Для определения интенсивности фотосинтеза вырезанные из листа пшеницы диски (1см²), помещенные в колбу с раствором хромовой смеси в разбавленной серной кислоте, кипятили на электрической плитке в течение 5

минут. Данная колба являлась опытной, в контрольном варианте отсутствовал растительный материал. После охлаждения растворов и добавления в них дистиллированной воды, ортофосфорной кислоты и дифениламина содержимое колб оттитровывали раствором соли Мора до превращения окраски в зеленый цвет.

Количество углерода органического вещества рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{(a - b) * K * 0,6 * 100}{S}$$



Рисунок 3. Колбы с диском, вырезанным из листа пшеницы и раствором хромовой смеси

Определение содержания пигментов проводили спектрофотометрическим методом.

Интенсивность фотосинтеза определяли фотоэлектроколориметрическим методом.

Обработку результатов опытов проводили с использованием пакета программы Excel Windows 2007. Результаты исследований были подвергнуты статистической обработке по общепризнанным методикам.

ГЛАВА 3. ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ЯРОВОЙ СОРТА «ЗЛАТА»

3.1. Действие тяжелых металлов на ростовые процессы и развитие пшеницы яровой сорта «Злата»

Процессы развития и роста растительных организмов тесно связаны между собой и основываются на фотосинтезе, дыхании, минеральном питании и регуляции водного баланса. Изменения в окружающей растении условиях в первую очередь влияют на эти жизненно важные физиологические процессы, что приводит к угнетению процессов роста и развития.

Рост растений происходит за счет деления клеток. Наиболее токсичным действием тяжелые металлы обладают на процесс деления меристематических клеток, за счет которого происходит рост побега и корня. Под влиянием тяжелых металлов нарушаются различные цитогенетические процессы и работа ферментов.

Для выяснения влияния концентраций тяжелых металлов на ростовые процессы и развитие растений был проведен ряд опытов. Результаты опытов представлены в таблицах 1-3.

В результате внесения в среду выращивания сульфата цинка в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) происходило ингибирование ростовых процессов и всхожести у растений пшеницы. Длина корней снижалась на 34%, высота побега снижалась на 60%. Количество проросших семян снижалось на 30%. Более низкая концентрация сульфата цинка (10^{-5} мМ) в среде выращивания приводила к стимулированию ростовых процессов проростков. При внесении в среду выращивания более низкой концентрации соли длина корней в опыте увеличивалась на 16%, а высота побега – на 12% по сравнению с контролем. Также по сравнению с контрольным показателем количество проросших семян возрастало на 12%. Можно предположить,

цинк оказывает стимулирующее действие на рост побега и корня и всхожесть семян за счет его участия в синтезе гормонов роста растений.

Таблица 1 – Влияние $ZnSO_4$ на рост и развитие проростков пшеницы яровой сорта «Злата» (*Triticum aestivum* L.)

Варианты опыта		Высота растений, см	Длина зародышевого корня, см	Количество проросших семян
Контроль		10±0,3	9,73±0,25	17
Концентрация $ZnSO_4$, мМ	10 ⁻³	4±0,2	6,38±0,4	12
	10 ⁻⁵	11,22±0,5	11,28±0,3	19

При анализе данных, полученных при проведении опытов, было выявлено, что повышенная концентрация сульфата меди в среде выращивания (10⁻³ мМ) является ингибирующей как для корней пшеницы, так и для побегов. Длина корней уменьшалась на 82%, высота побега уменьшалась на 75% по сравнению с контрольным показателем. Количество проросших семян снижалось на 24% по сравнению с контрольным показателем. При внесении более низкой концентрации сульфата меди (10⁻⁵ мМ) в среду выращивания происходило усиление роста побега и корневой системы по сравнению с контролем. Длина корней увеличивалась на 12%, высота растений увеличивалась на 13%. Также количество проросших семян увеличивалось на 12% по сравнению с контрольным показателем. Таким образом, действие сульфата меди сказывалось примерно одинаково как на ростовые процессы, так и на всхожесть семян.

Таблица 2 – Влияние CuSO_4 на рост и развитие проростков пшеницы яровой сорта «Злата» (*Triticum aestivum* L.)

Варианты опыта		Высота растений, см	Длина зародышевого корня, см	Количество проросших семян
Контроль		$10 \pm 0,3$	$9,73 \pm 0,25$	17
Концентрация CuSO_4 , мМ	10^{-3}	$2,5 \pm 0,4$	$1,72 \pm 0,15$	13
	10^{-5}	$11,27 \pm 0,2$	$10,87 \pm 0,33$	19

Таблица 3 – Влияние $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ на рост и развитие проростков пшеницы яровой сорта «Злата» (*Triticum aestivum* L.)

Варианты опыта		Высота растений, см	Длина зародышевого корня, см	Количество проросших семян
Контроль		$10 \pm 0,3$	$9,73 \pm 0,25$	17
Концентрация $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, мМ	10^{-3}	$3 \pm 0,15$	$2,07 \pm 0,17$	15
	10^{-5}	$12,55 \pm 0,1$	$12,83 \pm 0,3$	20

При внесении в среду выращивания нитрата свинца в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) происходило ингибирование роста побега на 70%, длина корня уменьшалась на 79% по сравнению с контролем. Количество проросших семян снижалось на 12%. Более низкие концентрации нитрата свинца в среде выращивания стимулировали рост побега на 26%, длина корней увеличивалась на 32%. Также в данном варианте опыта происходило

увеличение количества проросших семян на 18%. Таким образом, повышенные концентрации нитрата свинца в среде выращивания приводили к сильному ингибированию ростовых процессов, развития и всхожести растений пшеницы.

Таким образом, в ходе серии опытов было установлено, что низкие концентрации солей (10^{-3} мМ) меди, цинка и свинца вызывали ингибирующий эффект, более высокие концентрации (10^{-5} мМ) оказывали стимулирующий эффект на ростовые процессы и развитие растений пшеницы. Наибольшее отрицательное влияние на рост и развитие растений пшеницы яровой сорта «Злата» оказывало внесение в среду выращивания солей свинца и меди. Низкая концентрация соли нитрата свинца и соли сульфата меди оказывала сильное ингибирующее действие, как на прирост побега, так и на длину корней. Более высокие концентрации солей цинка, меди и свинца оказывали примерно одинаковый положительный эффект на ростовые процессы и развитие растений пшеницы.

3.2. Изменение содержания пигментов при действии тяжелых металлов на растения пшеницы яровой сорта «Злата»

Важнейшим элементом фотосинтетического аппарата являются пигменты – органические вещества, способные избирательно поглощать свет в видимой части спектра. Основными группами пигментов в растениях являются хлорофиллы и каротиноиды.

Хлорофиллы. У высших растений содержатся 2 вида хлорофиллов – *a* и *b*. Хлорофилл *a* – основной функциональный пигмент. Хлорофилл *a* имеет сине-зеленый оттенок, поглощает свет в диапазоне длин волн 426-660 нм. Хлорофилл *a* служит основным светопоглощающим пигментом, поскольку именно он является непосредственным донором энергии для фотосинтетических реакций. Содержание хлорофилла *a* в листе примерно в три раза больше, чем хлорофилла *b* (75-90%). Хлорофилл *b* обладает желто-

зеленым оттенком и поглощает свет в диапазоне длин волн 453-642. Он является вспомогательным пигментом в фотосинтетическом аппарате, поскольку поглощенную энергию он с высокой эффективностью передает на хлорофилл *a*. Содержание хлорофилла *b* в листе составляет 1/3 от содержания хлорофилла *a* (15-25%).

Каротиноиды. К каротиноидам относятся оранжевые или красные каротины и желтые ксантофиллы, а также каротиноидные кислоты. Каротиноиды так же, как и хлорофилл *b*, являются вспомогательными пигментами фотосинтетического аппарата. Помимо этого, они защищают хлорофилл от фотоокисления. Каротиноиды поглощают свет длиной волны 280-550 нм. Каротиноиды являются постоянными пигментами растений, но их содержание в листе ниже, чем содержание хлорофиллов.

Есть предположение, что такие тяжелые металлы как цинк, медь и свинец принимают участие в подавлении биосинтеза пигментов. Негативное действие тяжелых металлов на биосинтез пигментов может быть объяснено тем, что они приводят к нарушению работы ферментов, участвующих в данном процессе.

Для определения возможности участия меди, цинка и свинца в подавлении синтеза пигментов были проведены анализы по количественному определению в листьях контрольных и опытных растений хлорофиллов и каротиноидов. Результаты опытов представлены в таблице 4.

При внесении в среду выращивания сульфата цинка в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) происходило снижение содержания хлорофилла *a* на 12% по сравнению с контрольным показателем. Также произошло снижение содержания каротиноидов на 6%. Содержание хлорофилла *b* повысилось, но данные показатели были незначительны ($\approx 0,9\%$).

Более низкие концентрации сульфата цинка (10^{-5} мМ) в среде выращивания приводили к уменьшению содержания хлорофилла *b* на 9% и каротиноидов на 32% по сравнению с контролем. Содержание хлорофилла *a* в данном варианте опыта повышалось на 23%.

Таблица 4 – Влияние солей тяжелых металлов на пигментный состав у растений пшеницы яровой сорта «Злата» (*Triticum aestivum* L.)

Варианты опыта		Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г сырого веса	Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г сырого веса	Содержание каротиноидов, мг/г сырого веса
Контроль		1,77±0,2	1,06±0,1	0,31±0,1
Концентрация ZnSO ₄ , mM	10 ⁻³	1,56±0,3	1,07±0,3	0,29±0,1
	10 ⁻⁵	2,17±0,3	0,96±0,2	0,21±0,2
Концентрация CuSO ₄ , mM	10 ⁻³	0,6±0,2	0,33±0,2	0,17±0,2
	10 ⁻⁵	1,18±0,1	0,47±0,2	0,18±0,1
Концентрация Pb(NO ₃) ₂ , mM	10 ⁻³	1,57±0,1	1,14±0,1	0,21±0,1
	10 ⁻⁵	1,53±0,3	1,22±0,1	0,25±0,1

При внесении в среду сульфата меди в повышенной концентрации (10⁻³ mM) происходило сильное снижение содержания всех пигментов. Содержание хлорофилла *a* снизилось на 66%, хлорофилла *b* – на 69%, а каротиноидов на 45% по сравнению с контрольным показателем.

Более низкие концентрации сульфата меди (10⁻⁵ mM) также приводили к снижению содержания пигментов, но меньшему, чем в случае с повышенной концентрацией. Содержание хлорофилла *a* снизилось на 33%,

хлорофилла *b* – на 56%, а каротиноидов на 42% по сравнению с контрольным показателем.

Внесение в среду выращивания повышенной концентрации нитрата свинца (10^{-3} мМ) приводило к уменьшению содержания хлорофилла *a* на 11% по сравнению с контрольным показателем. Также происходило снижение содержания каротиноидов на 32%. Содержание хлорофилла *b* возрастало на 7% по сравнению с контролем.

Более низкие концентрации нитрата свинца (10^{-5} мМ) также приводили к снижению содержания хлорофилла *a* и каротиноидов. Содержание хлорофилла *a* было снижено на 14%, содержание каротиноидов – на 19% по сравнению с контрольным показателем. Содержание хлорофилла *b* возрастало на 15%.

Таким образом, выявить четкой зависимости между изменением содержания пигментов и концентрацией солей тяжелых металлов в среде выращивания проростков пшеницы не удалось. В целом, можно сказать, что соли цинка, меди и свинца являются в данном опыте стрессором для растений пшеницы, поскольку снижение содержания пигментов происходило при действии всех солей. Однако наиболее сильное снижение содержания всех пигментов прослеживается при наличии в среде выращивания соли сульфата меди.

Можно предположить, что в результате длительного воздействия сульфата меди на растения пшеницы, уменьшение концентрации каротиноидов указывало на усиление окислительных процессов, что приводило к возникновению окислительного стресса. В условиях стресса в растениях происходит снижение интенсивности фотосинтеза и угнетение всех синтетических процессов, в числе которых биосинтез пластид, в которых происходит синтез пигментов.

Реакция растений на стресс состоит из трех фаз:

1. Первичная стрессовая реакция;
2. Адаптация;

3. Истощение.

Во время первой фазы происходит сильное угнетение всех физиолого-биохимических процессов. Если стрессор воздействует на растение слишком сильно, то организм может погибнуть уже в первой фазе. Если воздействие стрессора не такое сильное, и у растения уже началась активация защитных механизмов (например, синтез стрессорных белков), то наступает вторая фаза стресса.

В фазу адаптации растение приспосабливается к возникшим условиям или усиливаются повреждения. Растение адаптируется благодаря включению защитных реакций. Адаптация происходит лучше в том случае, если стрессор действует медленно и постепенно, так как растение успевает приспособиться к его воздействию. После адаптации растение нормально развивается в данных условиях, но их продуктивность падает из-за больших затрат энергии на активацию защитных механизмов.

В фазу истощения происходит нарушение энергетического обмена, гомеостаза, усиливаются процессы распада. При продолжительном и сильном воздействии стрессора на растение возникают серьезные повреждения клеток, тканей и органов, в результате чего растение погибает. Если стрессор больше не воздействует на растение и условия среды нормализуются, то в организме растения начинается репарация – устранение повреждений и восстановлений функций.

Таким образом, можно предположить, что мы наблюдали развитие у растений пшеницы первичной стрессовой реакции, во время которой происходит угнетение синтетических процессов, что приводит к снижению содержания пигментов.

3.3. Действие тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза в растениях пшеницы яровой сорта «Злата»

Фотосинтетический процесс и содержание пигментов растений сильно реагируют на повышение уровня тяжелых металлов в среде. Воздействие высоких концентраций тяжелых металлов приводит к различным нарушениям в работе фотосинтетического аппарата, что, в свою очередь, уменьшает интенсивность фотосинтеза.

В первую очередь тяжелые металлы угнетают биосинтез фотосинтетических пигментов, в результате чего происходит снижение интенсивности процесса фотосинтеза.

Избыток тяжелых металлов нарушает состав мембран хлоропластов и тилакоидов, что может вызвать окислительный стресс в клетках растений и снизить содержание фотосинтетических пигментов и переносчиков электронов, тем самым ингибируя перенос электронов при фотосинтезе.

Повышенные концентрации свинца приводят к дефициту углекислого газа в растениях, так как под действием ионов свинца происходит закрытие устьиц.

Кроме того, основной фермент цикла Кальвина рибулозобисфосфаткарбоксилаза чувствительна к действию цинка, поэтому ее активность снижается в присутствии цинка в повышенных концентрациях. Также снижается активность фотосистемы II и нарушается перенос электронов.

Результаты проведения опытов по интенсивности фотосинтеза у проростков растений пшеницы яровой сорта «Злата» представлены на диаграмме (рис. 8).

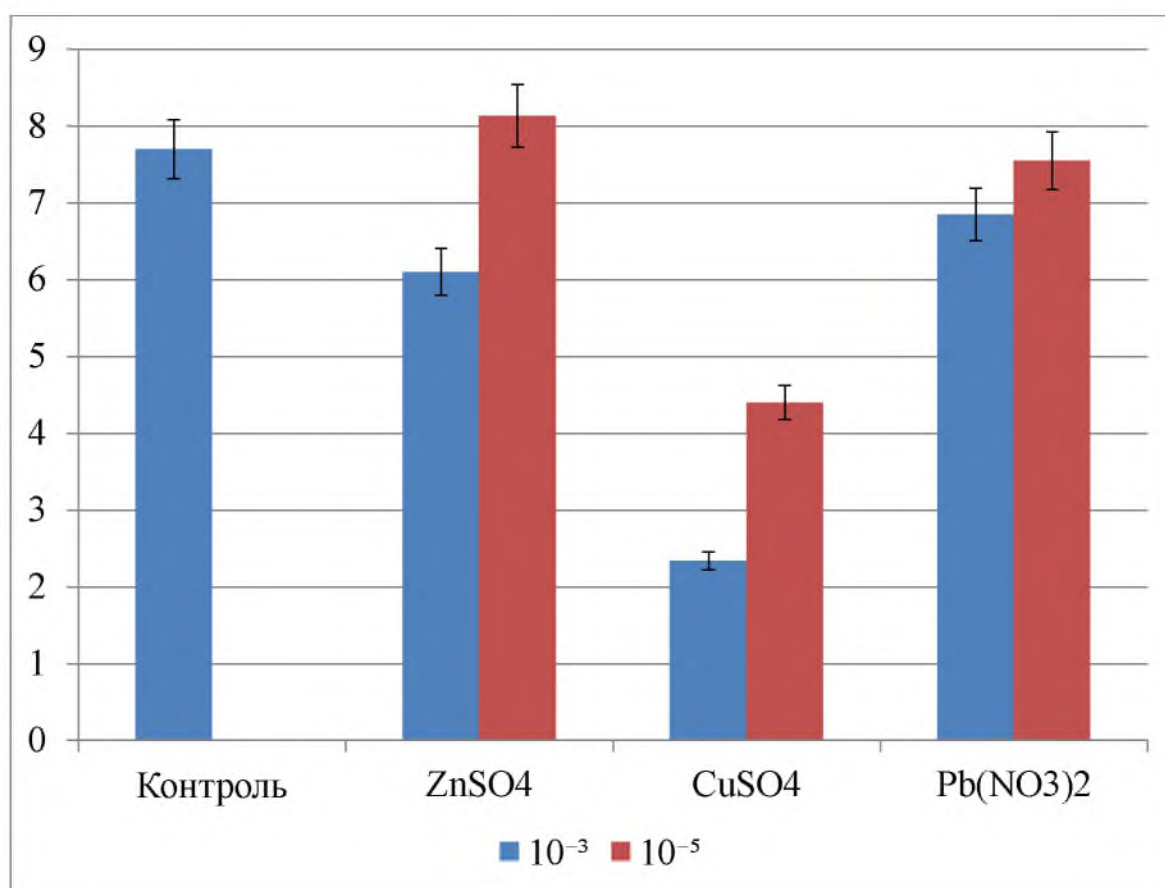


Рисунок 8. Влияние тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза (мг CO₂/(дм²•ч)) у проростков пшеницы мягкой сорта «Злата»

По результатам опытов можно предположить, что интенсивность фотосинтеза зависела от содержания пигментов. Наибольшее негативное влияние на интенсивность фотосинтеза, так же, как и на содержание пигментов, оказывали соли меди в обеих концентрациях. Наиболее положительное действие оказывала соль сульфата цинка в низкой концентрации (10⁻⁵ мМ).

При влиянии соли сульфата цинка в повышенной концентрации (10⁻³ мМ) на проростки пшеницы происходило снижение интенсивности процесса фотосинтеза на 21%. Более высокая концентрация сульфата цинка (10⁻⁵ мМ) приводила к повышению интенсивности фотосинтеза на 6%.

Содержание в среде выращивания соли сульфата меди в обеих концентрациях приводила к сильному снижению содержания пигментов. В связи с этим происходило сильное снижение интенсивности процесса

фотосинтеза. Повышенная концентрация сульфата меди (10^{-3} мМ) приводила к снижению фотосинтеза на 70%, более низкая концентрация сульфата меди (10^{-5} мМ) снижала интенсивность фотосинтеза на 43%.

При влиянии соли нитрата свинца в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) на проростки пшеницы происходило снижение интенсивности процесса фотосинтеза на 11%. Более высокая концентрация нитрата свинца (10^{-5} мМ) приводила к незначительному понижению интенсивности фотосинтеза на 2%.

Таким образом, можно предположить, что интенсивность фотосинтеза действительно зависит от содержания пигментов, поскольку соли меди оказывали сильное отрицательное действие, как на содержание всех основных пигментов растения, так и на интенсивность процесса фотосинтеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что некоторые из тяжелых металлов являются незаменимыми микроэлементами, ответственными за многие важные физиологические процессы в растениях, их избыток, однако, может иметь пагубные последствия и напрямую влиять на рост, обмен веществ, фотосинтез и другие процессы. В повышенных концентрациях тяжелые металлы являются стрессорами и вызывают у растений каскад защитных реакций, благодаря которым происходит адаптация растительных организмов к изменившимся условиям среды. В основе роста и развития растений лежат такие важные процессы, как фотосинтез, дыхание минеральное питание и другие, поэтому при изменении условий окружающей среды в первую очередь происходит нарушение ростовых процессов и развития растений.

Первыми задачами работы было выяснение стимулирующего и ингибирующего действия различных концентраций тяжелых металлов на ростовые процессы и развитие растений пшеницы. Была поставлена серия опытов для выяснения стимулирующего и ингибирующего действия различных концентраций таких металлов, как цинк, медь и свинец на ростовые процессы и развитие растений пшеницы яровой сорта «Злата».

В результате опытов установлены концентрации солей цинка, меди и свинца, которые оказывают стимулирующий эффект (10^{-5}) и ингибирующий эффект (10^{-3}) на рост и развитие растений пшеницы.

Было установлено, что при внесении в среду выращивания сульфата цинка в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) происходило ингибирование ростовых процессов у растений пшеницы. Длина корней снижалась на 34%, высота побега снижалась на 60% по сравнению с контрольным показателем. При низкой концентрации сульфата цинка (10^{-5} мМ) в среде выращивания отмечалось стимулирование роста корней на 16%, а высоты побега – на 12% по сравнению с контролем.

В результате проведения опытов, было выявлено, что повышенная концентрация сульфата меди в среде выращивания (10^{-3} мМ) являлась ингибирующей как для корней пшеницы, так и для побегов. Длина корней уменьшалась на 82%, высота побега уменьшалась на 75% по сравнению с контрольным показателем. Более низкая концентрация сульфата меди (10^{-5} мМ) в среду выращивания приводила к усилению роста побега на 13% и корневой системы на 12% по сравнению с контролем.

При внесении в среду выращивания нитрата свинца в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) происходило ингибирование роста побега на 70%, длина корня уменьшалась на 79% по сравнению с контролем. Внесение в среду выращивания нитрата свинца в низкой концентрации приводило к стимулированию роста побега на 26%. Длина корней увеличивалась на 32% по сравнению с контрольным показателем.

Для выяснения влияния тяжелых металлов на содержание пигментов были проведены анализы по количественному определению в листьях контрольных и опытных растений хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов.

При внесении в среду выращивания сульфата цинка в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) происходило снижение содержания хлорофилла *a* на 12% и каротиноидов на 6% по сравнению с контрольным показателем. Более низкие концентрации сульфата цинка (10^{-5} мМ) в среде выращивания увеличивали содержание хлорофилла *a* на 23%.

Наибольшее негативное влияние на содержание пигментов оказывал сульфат меди. При концентрации сульфата меди 10^{-3} мМ происходило снижение содержания хлорофилла *a* на 66%, хлорофилла *b* – на 69%, а каротиноидов на 45% по сравнению с контрольным показателем. При внесении в среду выращивания сульфата меди в концентрации 10^{-5} мМ происходило снижение содержания хлорофилла *a* на 33%, хлорофилла *b* – на 56%, а каротиноидов на 42% по сравнению с контролем.

Внесение в среду выращивания повышенной концентрации нитрата свинца (10^{-3} мМ) приводило к уменьшению содержания хлорофилла *a* на 11%, а каротиноидов на 32% по сравнению с контрольным показателем. Более низкие концентрации нитрата свинца (10^{-5} мМ) также приводили к снижению содержания хлорофилла *a* на 14%, каротиноидов – на 19%. Содержание хлорофилла *b* при этом возрастало на 15% по сравнению с контролем.

Не удалось обнаружить явной связи между содержанием пигментов и концентрацией солей тяжелых металлов, однако было замечено, что уровень пигментов снижается под воздействием всех видов этих солей. Изменение содержания пигментов связано с влиянием тяжелых металлов на их биосинтез. Тяжелые металлы больше всего влияют на биосинтез хлорофиллов, поскольку они замещают ион Mg из хлорофилла. Некоторые тяжелые металлы также влияют на ферменты, участвующие в биосинтезе хлорофилла.

В результате длительного воздействия тяжелых металлов растение также переходит в состояние стресса: происходит угнетение синтетических процессов, в том числе биосинтеза пластид. В пластидах осуществляется синтез фотосинтетических пигментов, поэтому пребывание растительного организма в состоянии стресса приводит к уменьшению их содержания.

После изучения действия солей тяжелых металлов на содержание пигментов в растениях пшеницы, была проведена серия опытов по изучению влияния этих металлов интенсивность фотосинтеза.

Главным образом тяжелые металлы оказывает влияние на интенсивность фотосинтеза путем изменения содержания фотосинтетических пигментов. Также они оказывают ингибирующее действие на фотосистемы I и II и нарушают транспорт электронов в световых реакциях, влияют на различные ферменты в темновых реакциях.

При влиянии соли сульфата цинка в повышенной концентрации (10^{-3} мМ) на проростки пшеницы происходило снижение интенсивности процесса

фотосинтеза на 21%. Более высокая концентрация сульфата цинка (10-5 мМ) приводила к повышению интенсивности фотосинтеза на 6%.

Содержание в среде выращивания соли сульфата меди в обеих концентрациях приводила к сильному снижению содержания пигментов. В связи с этим происходило сильное снижение интенсивности процесса фотосинтеза. Повышенная концентрация сульфата меди (10-3 мМ) приводила к снижению фотосинтеза на 70%, более низкая концентрация сульфата меди (10-5 мМ) снижала интенсивность фотосинтеза на 43%.

При влиянии соли нитрата свинца в повышенной концентрации (10-3 мМ) на проростки пшеницы происходило снижение интенсивности процесса фотосинтеза на 11%. Более высокая концентрация нитрата свинца (10-5 мМ) приводила к незначительному понижению интенсивности фотосинтеза.

По результатам опытов можно предположить, что содержание пигментов влияет на интенсивность фотосинтеза. Больше всего снижение пигментов происходило при влиянии на растения пшеницы сульфата меди. Интенсивность фотосинтеза также снижалась больше всего при действии сульфата меди в обеих концентрациях.

Таким образом, были обнаружены как ингибирующие, так и стимулирующие рост и развитие растений концентрации солей цинка, меди и свинца. Тяжелые металлы также оказывают влияние на содержание пигментов и интенсивность процесса фотосинтеза.

ВЫВОДЫ

1. Установлены концентрации солей цинка, меди и свинца, оказывающие стимулирующий (10^{-5}) и ингибирующий (10^{-3}) эффекты на ростовые процессы и развитие растений пшеницы яровой сорта «Злата».

2. Соли цинка, меди и свинца в низких концентрациях (10^{-3}) оказывают примерно одинаковый стимулирующий эффект на рост и развитие растений пшеницы.

3. Наиболее ингибирующим влиянием на ростовые процессы и развитие растений обладают соли меди в повышенной концентрации (10^{-5}), несколько меньшим – соли свинца. Соли цинка обладают меньшим из всех солей ингибирующим эффектом.

4. Соли тяжелых металлов оказывают сильное отрицательное действие на содержание хлорофиллов. Больше всего снижение содержания пигментов происходит при действии солей меди на проростки пшеницы. Сульфат меди в концентрации 10^{-3} мМ снижает содержание хлорофилла *a* на 66%, хлорофилла *b* – на 69%, а каротиноидов на 45% по сравнению с контрольным показателем. Присутствие в среде выращивания сульфата меди в концентрации 10^{-5} мМ приводит к снижению содержания хлорофилла *a* на 33%, хлорофилла *b* – на 56%, а каротиноидов на 42%.

5. При внесении в среду выращивания нитрата свинца в обеих концентрациях происходит небольшое повышение содержания хлорофилла *b*, но содержание хлорофилла *a* и каротиноидов снижается. Сульфат цинка в концентрации 10^{-5} мМ приводит к повышению содержания хлорофилла *a* и снижению уровня хлорофилла *b* и каротиноидов.

6. Интенсивность фотосинтеза зависит от содержания пигментов в растении пшеницы. Наибольшее снижение содержания пигментов наблюдается при наличии в среде выращивания сульфата цинка в обеих концентрациях, что приводит к сильному подавлению интенсивности процесса фотосинтеза. Сульфат меди в концентрации 10^{-3} мМ приводит к

снижению фотосинтеза на 70%, более низкая концентрация сульфата меди (10^{-5} мМ) снижает интенсивность фотосинтеза на 43%. Наиболее положительное действие на интенсивность фотосинтеза оказывает сульфат цинка в концентрации 10^{-5} мМ – происходит повышение интенсивности фотосинтеза на 6%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л.: Агропром-издат, 1987. 142 с.
2. Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений. Саранск: Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, 2009. С. 236.
3. Богдановский Г.А. Химическая экология. М.: МГУ, 1994. 237 с.
4. Вальков В.Ф. и др. Справочник по оценке почв. Майкоп: ГУРИПП "Адыгея", 2004. С. 236.
5. Виноградов А.Л. Основные закономерности в распределении микроэлементов между растениями и окружающей средой // Микроэлементы в жизни растений и животных. М.: Наука, 1985. С. 7-20.
6. Водяницкий Ю.Н., Ладонин Д.В., Савичев А.Т. Загрязнение почв тяжелыми металлами. М: Типография Россельхозакадемии, 2012. С. 304.
7. Демидчик В.В., Соколик А.И., Юрин В.М. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений //Успехи современной биологии. 2001. Т. 121. №. 5. С. 511-525.
8. Добровольский В.В. Глобальная биохимия свинца // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 7-19.
9. Добровольский В.В. Основные черты геохимии цинка и кадмия // Цинк и кадмий в окружающей среде. М.: Наука, 1992. С. 7-18.
10. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва – растение. Новосибирск: Наука, 1991. 150 с.
11. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях: Перевод с англ. М.: Мир, 1989. 376 с.
12. Кожанова О.Н., Дмитриева А.Г. Физиологическая роль металлов в жизнедеятельности растительных организмов //Физиология растительных организмов и роль металлов. М.: Изд. МГУ. 1989. С. 7-55.

13. Колесников С. и др. Экологическое состояние и функции почв в условиях химического загрязнения. Ростов-на-Дону: Ростиздат, 2006. С. 385.
14. Лепнева О.М., Обухов А.И. Состояние свинца в системе почва – растение в зонах влияния автомагистралей // Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 149-165.
15. Медведев И.Ф., Деревягин С.С. Тяжелые металлы в экосистемах // Саратов: «Ракурс». 2017. Т. 178.
16. Минеев В.Т., Макарова А.К., Гришина Т.А. Тяжелые металлы и окружающая среда в условиях современной интенсивной химизации. Сообщение 1. Кадмий // Агрохимия. 1981. № 5. С. 146-155.
17. Митенко Г.В., Снакин В.В., Мелконян Р.Г. Энергетический подход к анализу устойчивости природных систем // Энергия: экономика, техника, экология. 2014. № 7. С. 40-47.
18. Моисеенко Т.И. и др. Формы нахождения металлов в природных водах в зависимости от их химического состава // Водные ресурсы. 2013. Т. 40. № 4. С. 375-385.
19. Нестерова А.Л. Действие тяжелых металлов на корни растений. 1. Поступление свинца, кадмия и цинка в корни, локализация металлов и механизмы устойчивости растений. // Биол. науки. 1989. № 9. С. 72-86.
20. Никонов В.В. и др. Рассеянные элементы в бореальных лесах. М.: Наука, 2004.
21. Парибок Т.А., Леина Г.Д., Сазыкина Н.А., Топорский В.Н., Николаева Т.К., Дьякова Т.Е. Накопление свинца в городских растениях // Ботан. журн. 1981. Т. 66, № 11. С. 1646-1654.
22. 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.
23. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М. Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. С. 172.

24. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. С. 194.
25. Якушкина Н.И., Бахтенко Е.Ю. Физиология растений: учеб. для студентов вузов, обучающихся по специальности 032400 «Биология». М.: Гуманитар. Изд. Центр ВЛАДОС, 2005. 463 с.
26. Broadley M.R. et al. Zinc in plants //New phytologist. 2007. V. 173. – №. 4. P. 677-702.
27. Cruz F.J.R. et al. Copper toxicity in plants: nutritional, physiological, and biochemical aspects //Advances in Plant Defense Mechanisms. IntechOpen, 2022.
28. Fernandes J C., Henriques F.S. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants //The botanical review. – 1991. – V. 57. – P. 246-273.
29. Sharma P., Dubey R.S. Lead toxicity in plants // Brazilian journal of plant physiology. 2005. V. 17. P. 35-52.
30. Tsonev T., Lidon F.C. Effect of Zn pollution on plant growth and photosynthesis // Biologia Vegetal e Agro-Industrial. 2005. v. 2. P. 223-234.
31. Yruela I. Copper in plants // Brazilian Journal of Plant Physiology. 2005. V. 17. P. 145-156.