

ВЛИЯНИЕ АУКСИНА НА ТРАНСЛОКАЦИЮ МЫШЬЯКА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЯХ

^{1, 2}Е.В. Любунь, к.б.н., ^{1,2}А.Н. Шумихина, ³А.Э. Шумихин, ¹Е.В. Малыш

¹ВНИИАгрохимии

127434, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 31а, тел. (499) 976-37-50, E-mail: lyubun@vniia – pr.ru

²Институт биохимической технологии и нанотехнологии РУДН

117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10, к. 2

³ФБУН «ФНЦГ им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора

141014, Московская область, г. Мытищи, ул. Семашко, д. 2

Получение экологически безопасных фармакологически значимых растений и продуктов питания – важная задача. В исследовании использовали широко распространенные растения, технология выращивания которых хорошо отработана: лен, расторопша, подсолнечник. Установлено, что обработка семян фитогормоном ауксинового ряда индол-3-уксусной кислотой увеличивает содержание мышьяка в растительной биомассе. Обработка семян растений биопрепаратом, содержащим бактерии рода *Azospirillum*, влияет на уровень накопления мышьяка в биомассе и развитие растений.

Ключевые слова: мышьяк, биоаккумуляция, ростостимулирующие ризобактерии, фитогормоны, лекарственные растения.

Для цитирования: Любунь Е.В., Шумихина А.Н., Шумихин А.Э., Малыш Е.В. Влияние ауксина на транслокацию мышьяка в лекарственных растениях// Плодородие. – 2022. – №6. – С. 87-89. DOI: 10.25680/S19948603.2022.129.22.

Мышьяк широко распространен в окружающей среде. Хотя следовые количества мышьяка встречаются в литосфере повсеместно, его концентрация, в результате природных процессов и деятельности человека, может быть значительно выше установленных значений. Во многих частях мира загрязнение сельскохозяйственных почв, грунтовых и поверхностных вод представляет серьезную опасность для окружающей среды и здоровья населения. Источники загрязнения включают природные процессы (например, в Бангладеш и на юге Индии) [1], а также деятельность человека, такую как широкое применение неорганических As-гербицидов, дефолиантов, осушителей, инсектицидов и фунгицидов [2]; добычу полезных ископаемых [3].

Проблема загрязнения сельскохозяйственных почв тесно связана с производством экологически безопасных продуктов питания и здоровьем человека. Наличие неорганического мышьяка в пищевых продуктах провоцирует развитие злокачественных новообразований внутренних органов и других проблем со здоровьем, в том числе рака кожи и диабета [4]. Повышенная биоаккумуляция As в биомассе лекарственных растений может быть опасной для человека при использовании в традиционных медицинских целях [5].

В последнее десятилетие проводили интенсивные исследования и использование высших растений для восстановления почв [6]. Важнейшим этапом процесса, называемого фиторемедиацией, является поиск растений, типичных для конкретных почвенно-климатических условий и видов загрязнения, растений, характеризующихся хорошей всхожестью, высокими темпами роста, относительно большой биомассой, устойчивостью к высоким концентрациям поллютантов и способностью эффективно снижать содержание загрязняющих веществ [7].

В большинстве случаев степень очистки почвы зависит от доступности металла для растения и от устойчивости выбранного растения. Снижение фитотоксичности и повышение устойчивости растений достигают за счет внесения в почву органических и минеральных

удобрений, обработки растений биопрепаратами, инокуляции растений стимулирующими рост растений ризобактериями (PGPR), многие из которых активны в продуцировании фитогормонов [8].

Лен-долгунец, расторопша пятнистая и подсолнечник – ценные сельскохозяйственные культуры, широко используемые в текстильной, пищевой и химической промышленности. Из растительного сырья льна и расторопши получают лекарства, питательные субстраты и компоненты технических смесей. Оставшиеся после переработки льняной шрот и жмых употребляют на корм для животных.

Для повышения толерантности растений, стимуляции роста растений и повышения биоаккумуляции использовали и сравнивали эффекты индол-3-уксусной кислоты (ИУК, фитогормона ауксинового ряда) и биоудобрения, содержащего азотфиксирующие микроорганизмы рода *Azospirillum*, которые способны синтезировать ИУК в физиологически значимых для растений концентрациях [9].

Цель исследований - сравнить эффект стимуляции роста растений индол-3-уксусной кислотой (ИУК) и биоудобрения, содержащего азотфиксирующие микроорганизмы рода *Azospirillum*, способные синтезировать ИУК в физиологически значимых для растений концентрациях.

Методика. В опыте использовали лен-долгунец, расторопшу пятнистую и подсолнечник.

Почва дерново-подзолистая тяжелосуглинистая с содержанием гумуса в пахотном слое 1,7%, pH 5,3. Фоновое содержание As составляло 2,8 мг/кг почвы. Образцы почвы (по 20 кг) взяты с 13 площадок, расположенных через расстояние на площади 100 × 100 м каждая. Уровень, цвет и структура почвы на всех участках были одинаковыми. Почву извлекали из верхнего слоя (глубина 10–20 см) и перемешивали после удаления включений. Перед посадкой растений в почву вносили водный раствор арсенита натрия из расчета 25 и 50 мг As на кг⁻¹ почвы (чистый As).

Семена калибровали по размеру, очищали детергентом в течение 5 мин для удаления загрязнений и тщательно промывали водопроводной водой. Затем их помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, добавляли 5 мл водопроводной воды и оставляли для прорастания на 24 ч. По истечении этого времени проросшие семена помещали в бактериальную суспензию препарата *Azospirillum* (Govinda Agro Tech. Ltd., Nagpur) на 2 ч, после чего высевали.

Для изучения действия ИУК 3-дневные проростки растений обрабатывали водными растворами ИУК (Fluka) в течение 24 ч, с концентрацией 10^{-5} г/л, затем высевали.

Растения выращивали в климатической камере с контролируемыми условиями в течение 30 сут. Световой период составлял 13 ч, а темновой – 11 ч. Растения непрерывно освещали комплектом ламп мощностью 250 Вт (расстояние 1 м). Относительная влажность составляла 60%. После выращивания растений отбирали пробы почвы и собирали растительную биомассу для анализа на мышьяк. По окончании опытов степень извлечения поллютанта оценивали как отношение исходной и конечной (после обработки растений) концентрации поллютанта в почве.

Содержание общего мышьяка в почве и растениях анализировали с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии (GF-AAS; серия Solaar M; Thermo Elemental). Все параметры для измерения взяты из внутреннего программного обеспечения прибора.

Пробоподготовку почвы и растительного материала проводили с помощью микроволновой печи (Mars Express, CEM). В тефлоновые контейнеры помещали 200 мг растительного материала или почвы, добавляли 3 мл HNO_3 (Suprapur; Merck) и 2 мл H_2O_2 (30%, ЧДА). Затем образцы обрабатывали в микроволновой печи. Была применена оптимизированная программа минерализации растительного материала (5 мин при 40 psi + 35 мин при 120 psi). После разложения образца полученный минерализат доводили водой ($18,2 \text{ M}\Omega \times \text{cm}^{-1}$) до 20 мл и анализировали содержание общего мышьяка.

Данные каждого эксперимента представляют собой среднее арифметическое трех повторных образцов, каждый из которых состоит из 20 растений. Данные обрабатывали с использованием наименьшей значимой разницы Фишера при $P = 0,05$. Расчёты выполнены в программе Excel 2003 (Microsoft Corp., США).

Результаты и их обсуждение. Ауксиновые фитогормоны широко применяют в растениеводстве для увеличения скорости роста и регуляции корнеобразования растений [9]. Предыдущие работы показали, что оптимальный диапазон концентраций арсенита натрия для опытных растений в пересчете на чистый мышьяк не превышает 100 мг/кг сухой почвы, а более высокие концентрации сильно подавляют рост растений. Была установлена возможность применения ИУК для интенсификации подсолнечником почв [10].

Использовали почву, содержащую оптимальную концентрацию мышьяка – 50 мг/кг. После выращивания растений на загрязненной почве в течение 30 сут измеряли конечную концентрацию мышьяка в образцах растительной биомассы и почвы, определяли степень извлечения поллютанта при различных обработках ИУК. Результаты представлены в таблице 1.

Эффект иммобилизации мышьяка был наиболее значительным (степень извлечения 4,2) при обработке

подсолнечника ИУК в концентрации 10^{-5} г/л ИУК. Основу используемого биопрепарата составляют бактерии азоспириллы, которые хорошо известны как фиксаторы атмосферного азота, что приводит к повышению урожайности культур [10]. Широкое распространение азоспирилл в почве и их способность продуцировать фитогормоны – важнейший фактор, лежащий в основе улучшения роста и развития растений. Кроме того, бактерии могут изменять валентность мышьяка, например окисляя арсенит до более фитодоступного арсената или используя пентавалентный мышьяк как терминальный акцептор электронов для анаэробного дыхания, что приводит к восстановлению его до арсенита [11].

1. Степень извлечения мышьяка из почв при различных обработках ИУК

ИУК, г/л	Подсолнечник	Лен	Расторопша
0	1,5	1,4	1,6
10^{-9}	2,0	1,5	1,8
10^{-7}	2,4	2,2	2,4
10^{-5}	4,2	3,0	3,9
10^{-3}	1,6	1,5	1,5

Существует взаимосвязь между утилизацией триптофана и образованием ИУК, предполагая, что бактерии катаболизируют триптофан из корневых экссудатов растений до ИУК в присутствии мышьяка. Поскольку накопление зависит от состояния и уровня развития корневой системы растений, сравнили накопление арсенита натрия растениями, обработанными ИУК в концентрации 10^{-5} г/л, и растениями, обработанными биопрепаратом. Необработанные растения служили контролем. Начальная концентрация мышьяка – 25 мг/кг почвы.

Загрязнение мышьяком ингибировало всхожесть необработанных семян, а в некоторых случаях и приживаемость растений, произрастающих на загрязненной почве. Однако все растения, обработанные ауксином и инокулированные бактериями, показали хорошую всхожесть и силу роста.

PGPR также усиливают закладку боковых корней, что дает растениям лучший доступ к питательным веществам почвы. Такое влияние на морфологию корней характерно для ауксинов, в том числе ИУК. Синтез ауксина играет важную роль в стимуляции роста растений, а бактерии рода *Azospirillum*, составляющие основу используемого биопрепарата, являются известным продуцентом заметных количеств неклоточной ИУК в культуральных средах, дополненных предшественником ИУК триптофаном [12].

При оценке накопления мышьяка в растительной биомассе обнаружено, что больше всего мышьяка накапливали растения, семена которых обработаны раствором ауксина. Результаты представлены в таблице 2.

2. Концентрация мышьяка в почве и сухой биомассе растений, полученной при различных обработках

Растения	Вариант	As	
		мг/кг почвы	мг/кг сухой растительной биомассы
Лен	Без обработки	15,01	13,45
	ИУК	10,14	20,55
	Биопрепарат	13,03	12,51
Расторопша	Без обработки	17,32	15,34
	ИУК	11,52	19,17
	Биопрепарат	13,16	10,92
Подсолнечник	Без обработки	17,87	14,28
	ИУК	7,58	22,50
	Биопрепарат	10,50	17,64

Растения подсолнечника, обработанные ризобактериями, характеризовались хорошей биомассой и накапливали мышьяка на 25 % больше, чем необработанные контрольные растения, но меньше, чем обработанные ауксином растения. Наибольшее снижение содержания общего мышьяка в почве (70 %) наблюдалось в варианте подсолнечник и ИУК.

При обработке бактериальным препаратом семян расторопши содержание мышьяка в растительной ткани меньше на 30 % по сравнению с контролем. У льна, при обработке биопрепаратом, снижение составило 14%. Однако количество мышьяка в почве в этих двух вариантах было снижено на 50% от исходного содержания мышьяка (25 мг/кг), причем оно было больше, чем на контроле. Скорее всего, такое снижение уровня загрязнения при одновременном уменьшении тканевого накопления связано с большой растительной биомассой в этих вариантах и с более высокой устойчивостью растений к загрязнению, вызванной инокуляцией. Ранее, на примере яровой пшеницы было показано, что растения, инокулированные азоспириллами, накапливают мышьяка меньше, чем поверхностно стерилизованные неинокулированные [11].

Заключение. Это исследование продемонстрировало, что PGPR-бактерии препарата Azospirillum и продукты их вторичного метаболизма могут влиять на уровень накопления мышьяка в биомассе и развитие льна, расторопши и подсолнечника. Обработка ИУК в дозе 10^{-5} мг/л увеличивает содержание мышьяка в растительной биомассе, что можно использовать в процессах восстановления почв. Обработка биопрепаратом положительно влияет на развитие растений, увеличивает биомассу, но не усиливает транслокацию мышьяка растениями, что важно при использовании биопрепаратов в производстве фармакологической и сельскохозяйственной продукции.

Литература

1. Raju N. J. Arsenic in the geo-environment: A review of sources, geochemical processes, toxicity and removal technologies //Environmental research. – 2022. – Т. 203. – С. 111782.
2. Punshon T., Jackson B. P., Meharg A. A., Warczack T., Scheckel K., Guerinot M. L. Understanding arsenic dynamics in agronomic systems to predict and prevent uptake by crop plants //Science of the Total Environment. – 2017. – V. 581. – P. 209-220.
3. Mkandawire M. and E. G. Dudel, Accumulation of arsenic in Lemna gibba L. (duckweed) in tailing waters of two abandoned uranium mining sites in Saxony, Germany // Sci. Total Environ. – 2005. – V. 336. – P. 81–89.
4. Shraim A. M. Rice is a potential dietary source of not only arsenic but also other toxic elements like lead and chromium //Arabian Journal of Chemistry. – 2017. – V. 10. – P. S3434-S3443.
5. Vaculík M., Jurkovič L., Matejkovi, P., Molnár M., Lux A. Potential risk of arsenic and antimony accumulation by medicinal plants naturally growing on old mining sites //Water, Air, & Soil Pollution. – 2013. – V. 224. – №. 5. – P. 1-16.
6. Ali H., Khan E., Ilahi I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation //Journal of chemistry. – 2019. – V. 2019.
7. Ali H., Khan E., Sajad M. A. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications //Chemosphere. – 2013. – V. 91. – №. 7. – P. 869-881.
8. Majeed A., Muhammad Z., Ahmad H. Plant growth promoting bacteria: role in soil improvement, abiotic and biotic stress management of crops //Plant cell reports. – 2018. – V. 37. – №. 12. – P. 1599-1609.
9. Bashan Y., De-Bashan L. E. How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth—a critical assessment //Advances in agronomy. – 2010. – V. 108. – P. 77-136.
10. Lyubun Ye. V., Kosterin P. V., Zakharova E. A., Shcherbakov A. A., and Fedorov E. E., “Arsenic-contaminated soils: phytotoxicity studies with sunflower and sorghum”//J. Soils Sediment –2002. – V. 2.— P. 143–147.
11. Lyubun Ye. V., Fritzsche A., Chernyshova M. P., Dudel E. G., and Fedorov E. E., Arsenic transformation by Azospirillum brasilense Sp245 in association with wheat (*Triticum aestivum* L.) roots // Plant Soil. – 2006. – V. 286 – P. 219–227.
12. Baldani V. L. D., Baldani J. I., Döbereiner J. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp.//Brasil. Biol. Fertil. Soils – 1989 -V. 4 – P. 37–40.

EFFECT OF AUXIN ON ARSENIC TRANSLOCATION IN MEDICINAL PLANTS

^{1,2} Lyubun E.V. PhD, ^{1,2} Shumikhina A.N., ³ Shumikhin A.E., ¹ Malysh E.V.

¹VNIIAgrokhimii 127434, Moscow, st. Pryanishnikova, 31a, tel. (499) 976-37-50, E-mail: lyubun@vniia-pr.ru

²Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, Peoples' Friendship University of Russia, 117198, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, 10, building 2

³FBUN "FNTSG im. F. F. Erisman "Rosptrebnadzor, 141014, Moscow region, city of Mytishchi, Semashko street, 2

Obtaining ecologically pure pharmacologically significant plants and food products is an important task. In this work, we used plants whose cultivation technology is well developed and widely distributed: flax, milk thistle, and sunflower. This work demonstrated that seed treatment with the auxin phytohormone, indole-3-acetic acid, increased the content of arsenic in plant biomass. The treatment of plant seeds with a biological product containing bacteria of the genus *Azospirillum* affects the level of arsenic accumulation in the biomass and the development of plants.

Keywords: arsenic, bioaccumulation, growth-promoting rhizobacteria, phytohormones.

УДК 633:57.045

DOI: 10.25680/S19948603.2022.129.23

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ПОГЛОТИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ (¹⁵N)

Л.В. Осипова, д.б.н., Т.Л. Курносова, к.б.н., И.А. Быковская,

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова»

(ФГБНУ «ВНИИ агрохимии»)

127550, Россия, г. Москва, ул. Прянишникова, 31А

E-mail: legos4@yandex.ru

Установлена реакция растений на изменение обеспеченности основными элементами, предпосевную обработку семян (ПОС) соединениями селена и кремния при действии абиотического стресса. Показано, что поглотительная функция корневой системы находится в соответствии с общей направленностью метаболизма.

Ключевые слова: ячмень, ¹⁵N, поглотительная способность корневой системы, продуктивность, малоновый диальдегид (МДА), фотосинтетические пигменты.