

вающих контроль качества лекарственного растительного сырья. В частности, срочного решения требуют вопросы экспресс-анализа лекарственного фитосырья на содержание токсичных элементов на стадии приемки сырья и на стадии приготовления готовых лекарственных форм. Выбор участков сбора лекарственного сырья должен проводиться на основе эколого-геохимического картирования почв их произрастания и самой фитомассы на токсичные элементы.

Растительное сырье, которое используется в лекарственных целях, должно иметь соответствующие документы и сертификаты качества.

В целях сохранения растительного покрова и, в частности, популяций лекарственных растений, необходим контроль за соблюдением установленного режима охраны и исключение тех видов хозяйственного использования, которые могут привести как к сокращению регионально-го генофонда ценных видов, так и к ухудшению их экологического качества.

Литература

1. Ярославцева А.В. Парадигма Гиппократ и ме-

тодологические, аксиологические основания современной медицины // Историческая и социально-образовательная мысль. – 2012. – Вып.1. – С.228–235.

2. Шеина Н.Е., Шеин А.А., Филиппова Г.В. и др. Возобновляемое сырье Якутии: состав, свойства, биотехнологические аспекты применения (обзор). – Ч. 2. Разработки на основе лишайникового сырья (жидкофазные препараты) // Наука и образование. – 2012. – №1. – С.70–75.

3. Аньшакова В.В., Каратаева Е.В., Шарина А.С. и др. Возобновляемое сырье Якутии: состав, свойства, биотехнологические аспекты применения (обзор). – Ч. 3. Разработки на основе лишайникового сырья (твердофазные биопрепараты) // Наука и образование. – 2012. – №2. – С. 86–92.

4. Лебеда А. Ф. Перспективы использования растений в борьбе с иммунодефицитами // Тез. докл. IV Міжнар. конф. з медичної ботаніки. – Київ, 1997. – С.3–17.

5. Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов. № 5061-89.

Поступила в редакцию 25.07.2014

УДК 582.998.2:58.04:[546.815+546.48]

Влияние малых концентраций ионов свинца и кадмия на развитие проростков ромашки лекарственной (*Matricaria chamomilla* L.)

Э.В. Филиппов, А.А. Шеин, И.А. Прокопьев, Г.В. Филиппова

Исследовано действие ионов свинца и кадмия в концентрациях 3, 15, 30, 60, 120 мкМ на всхожесть семян и развитие проростков ромашки лекарственной. Выявлен более токсический эффект влияния ионов Cd^{2+} на проростки ромашки лекарственной, выраженный в угнетении роста корешка по сравнению с действием ионов Pb^{2+} и совместным действием $Pb^{2+}+Cd^{2+}$. В целом отмечена тенденция к увеличению активности компонентов антиоксидантной защиты низкомолекулярной и ферментативной природы, интенсивности перекисного окисления липидов и содержания фотосинтетических пигментов при действии ионов тяжелых металлов (Pb^{2+} , Cd^{2+} и $Pb^{2+}+Cd^{2+}$) в диапазоне концентраций 3÷120 мкМ.

Ключевые слова: *Matricaria chamomilla* L., ионы свинца и кадмия, химический стресс.

The effect of lead and cadmium ions of concentrations 3, 15, 30, 60, 120 μM on seed germination and seedling development of Matricaria chamomilla is investigated. It is shown more toxic effect of Cd^{2+} ions on seedlings, expressed in inhibition of root growth compared to the effect of Pb^{2+} and the combined action of $Pb^{2+}+Cd^{2+}$ ions. In general, the tendency to increase the activity of components of antioxidant protection of low molecular weight and enzyme nature, the intensity of lipid peroxide oxidation and photosynthetic pigments content under the action of heavy metal ions (Pb^{2+} , Cd^{2+} and $Pb^{2+} + Cd^{2+}$) in a concentration range of 3 ÷ 120 μM.

Key words: *Matricaria chamomilla* L., lead and cadmium ions, chemical stress.

ФИЛИППОВ Эдуард Васильевич – к.б.н., с.н.с. ИБПК СО РАН, edy73@mail.ru; ШЕИН Алексей Анатольевич – к.б.н., с.н.с. ИБПК СО РАН, bg98saa@yandex.ru; ПРОКОПЬЕВ Илья Андреевич – к.б.н., н.с. ИБПК СО РАН, ilya.a.prokopiev@gmail.com; ФИЛИППОВА Галина Валерьевна – к.б.н., с.н.с. ИБПК СО РАН, nureeva@yandex.ru.

Постоянно возрастающая техногенная нагрузка на окружающую среду все более обостряет проблему оценки устойчивости биологических систем, испытывающих действие стресс-факторов среды разной природы и интенсивности. Вместе с тем известно, что длительное воздействие техногенных загрязнителей в малых и сверхмалых концентрациях способно вызвать в клетках растений не только токсические эффекты, но и активировать приспособительные физиологические и биохимические реакции [1–3].

В ряду техногенных стресс-факторов одним из ведущих является загрязнение биосферы группой поллютантов, получивших общее название «тяжелые металлы». Основными среди них считаются Hg, Pb, Cd, As, Zn [4]. Эта группа элементов обладает большим сродством к физиологически важным органическим соединениям и способна инактивировать последние. Их избыточное поступление в живые организмы нарушает процессы метаболизма, тормозит рост и развитие [5]. В частности, известно, что соли кадмия при действии на биологические клетки более токсичны по сравнению с аналогичными концентрациями солей свинца [6].

Цель настоящей работы – исследование влияния ионов Pb^{2+} , Cd^{2+} и их сочетаний на физиологические и биохимические характеристики 12-дневных проростков ромашки лекарственной (*Matricaria chamomilla* L.) сорта «Подмосковная».

Материалы и методы исследований

В качестве тест-объекта использовали ромашку лекарственную (*Matricaria chamomilla* L.) – однолетнее травянистое растение, растущее по лугам, степям и на сорных местах. Семена ромашки проращивали в чашках Петри на ватно-фильтровальной подложке, на которую наносили 10 мл дистиллированной воды (контроль), раствор $PbCl_2$ или $CdCl_2$ в концентрациях 3, 15, 30, 60, 120 мкМ. В варианте сочетанного действия растворы $PbCl_2$ и $CdCl_2$ добавляли в концентрациях 1,5+1,5; 7,5+7,5; 15+15; 30+30; 60+60 мкМ. Проращивание семян производилось в комнатных условиях при температуре 20°C и фотопериоде 16 ч. Опыты закладывались в шести повторностях по 50 семян. В качестве морфологического параметра оценки использовалась длина корешка и побега, в качестве физиологического – всхожесть семян на 12-й день [7].

Определение активности фермента супероксиддисмутазы (СОД) проводили по измерению величины молярного коэффициента экстинкции

бисформазановых комплексов [8], активности пероксидазы (ПОК) – по стандартной методике окисления о-дианизидина H_2O_2 [9]. Определение суммарного содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) проводили по методике, основанной на окрашивании о-фенантролином восстановленного хлорида железа [10]. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по методике, основанной на реакции между малоновым диальдегидом (МДА) и тиобарбитуровой кислотой [11]. Коэффициент антиоксидантной защиты ($K_{АОЗПОЛ}$) рассчитывали как соотношение нормированных относительно контроля значений по формуле:

$$K_{АОЗПОЛ} = (НМАО_N + СОД_N + ПОК_N) / 3 \cdot ПОЛ_N.$$

Определение содержания хлорофиллов и каротиноидов в сухой массе проростков проводили в 100% ацетоне с максимумами поглощения для хлорофиллов Хл *a* – 662, Хл *b* – 644 и каротиноидов (Кар) – 440 нм [12].

Скорость одновременного включения 3H -тимидина в молекулы ДНК и ^{14}C -лейцина в молекулы белка меристематических клеток проростков определялась радиоиндикаторным методом с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика Rackbeta II фирмы «LKB-Wallac» (Швеция–Финляндия) [13].

Сравнение средних значений выборок проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), значимость отличий между средними значениями определяли, используя критерий Ньюмена–Кейлса для множественных сравнений при уровне $p \leq 0,05$ [14]. Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, v.2007.

Результаты и обсуждение

Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что всхожесть семян во всем диапазоне концентраций (от 3 до 120 мкМ) солей металлов во всех трех вариантах опыта (Pb^{2+} , Cd^{2+} и $Pb^{2+} + Cd^{2+}$) была выше контроля в 1,5÷1,7 раза, что указывает на стимуляционный эффект микромолярных концентраций ионов свинца и кадмия в отношении изученного показателя.

Выявлено, что длина корешков и побегов при действии ионов Pb^{2+} и сочетанного действия ионов ($Pb^{2+} + Cd^{2+}$) во всем изученном диапазоне концентраций не отличалась от контроля (табл.1). Влияние ионов Cd^{2+} вызывало уменьшение в 1,2÷1,4 раза длины корешка относительно контроля во всем диапазоне концентраций, при этом уменьшение в 1,4 раза длины побега наблюдалось только при макси-

Таблица 1

Влияние ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} на физиологические показатели 12-дневных проростков *Matricaria chamomilla* L.

Варианты опыта, мкМ	Всхожесть, %	Длина корешка, мм	Длина побега, мм
Контроль	29,2±3,2	5,1±0,4	6,1±0,3
Pb^{2+}			
3	54,0±3,0	5,2±0,5	5,5±0,3
15	44,8±4,8	5,0±0,4	5,7±0,2
30	52,0±1,9	4,4±0,3	6,2±0,2
60	38,8±2,1	4,7±0,3	5,5±0,3
120	52,8±5,8	4,5±0,3	5,9±0,2
Cd^{2+}			
3	48,4±3,8	3,7±0,3	5,9±0,2
15	47,6±2,8	3,8±0,3	6,0±0,3
30	58,4±3,1	4,4±0,2	5,5±0,3
60	54,0±5,3	4,1±0,3	5,8±0,3
120	49,2±4,3	3,6±0,3	3,8±0,2
$Pb^{2+}+Cd^{2+}$			
1,5 + 1,5	48,0±3,8	5,1±0,4	5,5±0,3
7,5 + 7,5	48,8±3,6	4,7±0,5	5,6±0,4
15 + 15	48,3±3,4	4,4±0,3	6,3±0,3
30 + 30	40,4±1,6	4,8±0,4	6,0±0,4
60 + 60	36,4±5,3	5,4±0,5	5,7±0,2

мальной изученной концентрации (120 мкМ), что указывает на селективную чувствительность корешков проростков ромашки аптечной к действию ионов кадмия.

По результатам исследования скорости матричных процессов биосинтеза ДНК (реплика-

ция+репарация; по скорости включения H^3 -тимидина) и белков (трансляция; по скорости включения ^{14}C -лейцина), являющихся отражением процессов на физиологическом уровне (табл. 2), отмечено увеличение рассматриваемых показателей относительно контроля (кроме трансляции в варианте (60 мкМ Pb^{2+} + 60 мкМ Cd^{2+}), что является подтверждением выявленного стимуляционного действия ионов свинца, кадмия и их сочетанного влияния в диапазоне концентраций 3÷120 мкМ в отношении интенсификации ростовых процессов 12-дневных проростков ромашки лекарственной.

Проведенный биохимический анализ (табл.2) показал, что содержание малонового диальдегида (продукта ПОЛ) в тканях проростков ромашки лекарственной зависит от типа действующих ионов. Отмечено, что при действии Pb^{2+} во всем диапазоне микромолярных концентраций наблюдается повышение в 1,1÷1,4 раза концентрации МДА относительно контроля. Повышение в 1,2 раза интенсивности процессов ПОЛ при действии Cd^{2+} проявилось лишь при концентрации 120 мкМ. При совместном влиянии Pb^{2+} и Cd^{2+} наблюдалось снижение исследуемого показателя во всем диапазоне концентраций, что может указывать на проявление антагонизма действия этих двух ионов на растительный организм (на примере ромашки лекарственной).

Известно, что при воздействии различных стресс-факторов, в том числе загрязнения

Таблица 2

Влияние ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} на биохимические показатели проростков *Matricaria chamomilla* L.

Варианты опыта, мкМ	НМАО, мг-экв. кверцетина/г	ПОК, ммоль/(мин·г _{пр})	СОД, ммоль/(мин·г _{пр})	С _{МДА} , ммоль/г ткани	H^3 -тимидин фмоль/(г _{пр} ·сут)	^{14}C -лейцин, пмоль/(г _{пр} ·сут)	$k_{АОЗ/ПОЛ}$
Контроль	4,0±0,5	3,1±0,1	12,8±0,2	21,7±0,5	1,2±0,3	2,5±0,1	1,0
Pb^{2+}							
3	8,0±0,7	3,7±0,1	12,7±0,3	29,5±2,3	5,7±0,5	6,4±0,3	1,0
15	6,2±0,2	3,1±0,3	12,9±0,9	24,5±2,0	2,7±0,1	3,0±0,3	1,0
30	5,8±0,6	1,7±0,1	14,7±1,0	22,9±0,4	3,9±0,1	3,6±0,2	1,0
60	5,7±0,2	3,8±0,3	15,3±0,3	29,5±1,7	3,5±0,3	3,9±0,4	0,9
120	11,0±0,7	4,8±0,8	22,9±0,6	26,0±2,6	1,9±0,3	3,0±0,3	1,7
Cd^{2+}							
3	3,4±0,1	2,0±0,2	17,6±0,3	19,5±1,6	1,5±0,3	2,4±0,3	0,9
15	3,3±0,3	1,8±0,1	15,8±4,4	18,7±3,8	1,5±0,1	2,5±0,1	1,0
30	2,6±0,2	1,9±0,1	15,3±1,1	15,0±1,0	2,6±0,4	2,7±0,3	1,2
60	2,0±0,1	2,0±0,1	21,1±0,1	13,6±1,4	4,0±0,4	3,3±0,3	1,5
120	5,5±0,2	6,0±0,3	34,0±0,9	25,8±2,0	4,2±0,3	5,3±0,4	1,8
$Pb^{2+}+Cd^{2+}$							
1,5 + 1,5	3,5±0,2	2,3±0,2	7,7±0,1	16,0±1,6	5,6±0,4	5,1±0,2	1,0
7,5 + 7,5	3,5±0,3	1,8±0,1	7,0±0,2	18,9±0,6	2,9±0,3	2,6±0,2	0,8
15 + 15	2,8±0,1	2,3±0,2	8,5±1,2	18,9±0,4	3,1±0,1	3,3±0,4	0,8
30 + 30	3,7±0,1	2,8±0,2	8,4±0,1	15,1±2,0	6,6±0,7	6,7±0,6	1,2
60 + 60	3,3±0,1	1,6±0,1	16,8±0,1	16,2±1,3	1,9±0,3	2,1±0,1	1,2

тяжелыми металлами, усиливается генерация активных форм кислорода и свободных радикалов, индуцирующих процессы ПОЛ и способствующих при их избыточном накоплении развитию деструктивных процессов, как на уровне клетки, органа, так и всего организма [11]. Общая противорадикальная и противоперекисная защита клетки складывается из активности соответствующих оксидоредуктаз и содержания НМАО различной природы [15]. Исследование

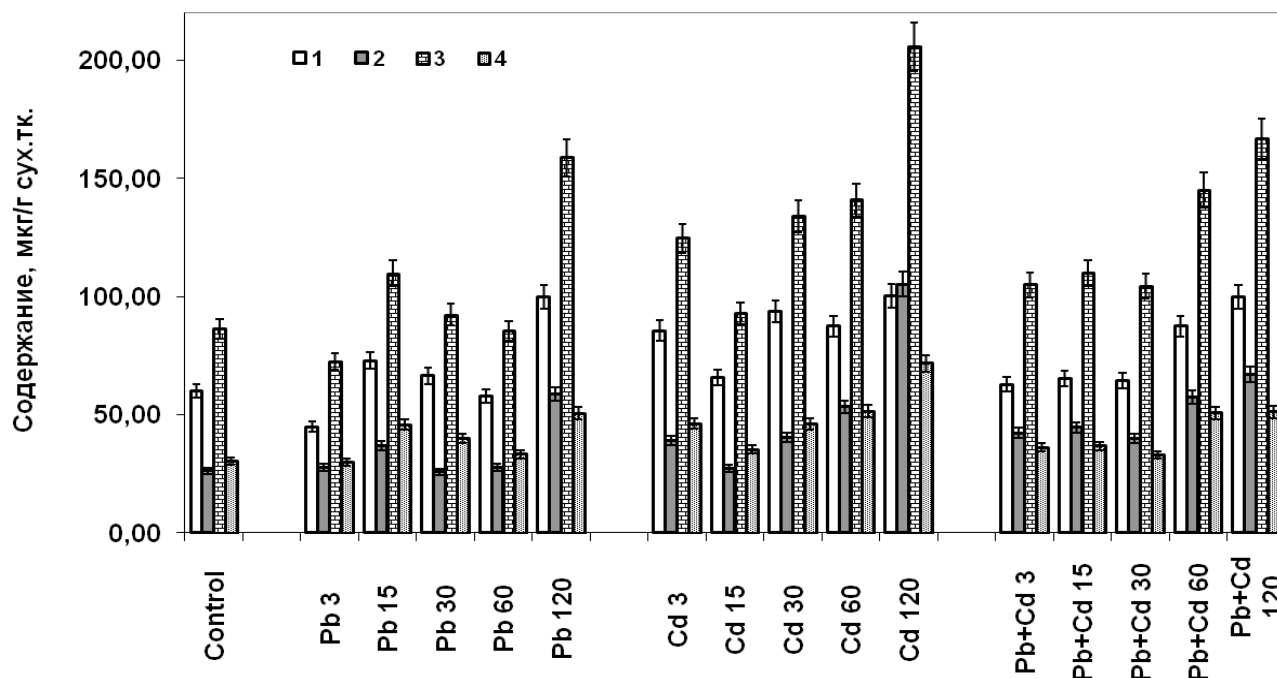
содержания НМАО в тканях проростков ромашки лекарственной выявило схожую при сравнении с ПОЛ тенденцию: при действии Pb^{2+} во всем диапазоне концентраций наблюдается повышение в 1,4÷2,8 раза концентрации НМАО относительно контроля и в 1,4 раза – при действии Cd^{2+} (120 мкМ); при совместном влиянии Pb^{2+} и Cd^{2+} исследуемые показатели не отличались либо незначительно снижались относительно контроля.

Активность СОД при увеличении концентрации тяжелых металлов до 120 мкМ возрастает в 1,8 (свинец), 2,7 (кадмий) и 1,3 (кадмий + свинец) раза относительно контроля. При этом отмечено, что при действии Cd^{2+} наблюдалось увеличение активности СОД во всем диапазоне концентраций 3,0÷120 мкМ.

Активность пероксидазы при действии Pb^{2+} изменялась немонотонно. В частности, на фоне повышения интенсивности ПОЛ наблюдалось возрастание в 1,2÷1,5 раза исследуемого показателя при концентрациях 3,6 и 120 мкМ. Влияние Cd^{2+} в концентрации 120 мкМ вызывало активацию в 1,9 раза пероксидазы, что согласуется с полученными экспериментальными данными по интенсивности ПОЛ. При совместном влиянии Cd^{2+} и Pb^{2+} , так же как и в случае с ПОЛ, наблюдалось снижение исследуемого показателя во всем диапазоне концентраций, что подтверждает возможность проявления антагонистического эффекта при действии этих двух ионов на растения.

Установлено, что при действии ионов Pb^{2+} в концентрациях 3÷60 мкМ, Cd^{2+} 3÷30 мкМ и совместном влиянии Cd^{2+} и Pb^{2+} 3÷120 мкМ значение $K_{АОЗ/ПОЛ}$ находилось в диапазоне 0,8÷1,2, что может свидетельствовать об устойчивом протекании метаболических процессов, выраженном в сбалансированной работе прооксидантно-антиоксидантных систем в режиме простой компенсации [1]. При действии более высоких концентраций ионов изученных тяжелых металлов (ТМ) Pb^{2+} 120 мкМ, Cd^{2+} 60–120 мкМ наблюдалось увеличение $K_{АОЗ/ПОЛ}$ в 1,5 раза относительно контроля, что указывает на активацию систем антиоксидантной защиты клеток проростков в режиме гиперкомпенсации.

Известно, что неблагоприятные условия среды произрастания оказывают сильное влияние на такие физиологические системы растений, как их пигментный аппарат [16]. Содержание и соотношение фотосинтетических пигментов определяются многими внешними и внутренними факторами, действие которых интегрируется в активности процессов биосинтеза и деградации пигментов. Нами показано, что с повышением концентрации в микромолярном диапазоне ионов ТМ в среде наблюдается тенденция к увеличению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды) (рисунок). Так, при действии ионов ТМ во всех вариантах опыта при концентрации 120 мкМ наблюдалось повышение содержания хлорофилла *a* в 1,2÷1,7, хлорофилла *b* в 1,6÷2,7,



Содержание хлорофилла *a* (1), хлорофилла *b* (2), общего хлорофилла *a* + *b* (3) и каротиноидов (4) у проростков семян ромашки лекарственной в зависимости от концентрации ионов ТМ

каротиноидов в $1,4 \div 1,7$ раза относительно контроля. Это может быть связано не только с мобилизацией компенсаторных систем растения в целях сохранения присущего ему уровня ассимиляционного процесса [17], но и с эффектом действия микромолярных концентраций ионов ТМ, в том числе Pb^{2+} и Cd^{2+} , которые, в отличие от высоких, могут повышать активность биосинтеза фотосинтетических пигментов [18]. При этом эффективность процесса фотосинтеза может снижаться, что обусловлено нарушением баланса в пигментном комплексе растений [19].

Заключение

Выявлен более токсический эффект ионов Cd^{2+} в микромолярном диапазоне концентраций по отношению к 12-дневным проросткам ромашки лекарственной, выраженный в угнетении роста их корешка по сравнению с действием Pb^{2+} и совместным действием Pb^{2+} и Cd^{2+} .

Вместе с тем отмечена тенденция увеличения активности компонентов антиоксидантной защиты на фоне повышения интенсивности перекисного окисления липидов в режиме простой компенсации при действии изученных ионов ТМ в диапазоне концентраций $3 \div 60$ мкМ на проростки ромашки лекарственной, а при 120 мкМ – в режиме гиперкомпенсации. Это позволяет предположить, что и активность защитных систем репарации ДНК (одна из составляющих повышения включения H^3 -тимидина в растущие либо репарируемые молекулы ДНК) также увеличивается в $1,6 \div 5,5$ раза по сравнению с контролем при действии микромолярных концентраций изученных ионов ТМ в режиме гиперкомпенсации.

По-видимому, это является причиной стимуляционного действия ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} в микромолярных концентрациях ($3 \div 120$ мкМ) на всхожести семян ромашки лекарственной.

Выявлена тенденция к увеличению содержания фотосинтетических пигментов при возращении концентрации ионов свинца, кадмия и их сочетанного действия до значений 120 мкМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-98501-р-восток-а).

Литература

1. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация / Пер. с англ. – М.: Мир, 1988. – 568 с.
2. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. – М.: Наука, 1981. – 280 с.
3. Шашурин М.М., Журавская А.Н. Изучение адаптивных возможностей растений в зоне техногенного воздействия // Экология. – 2007. – № 2. – С.93–98.
4. Ревич Б.А., Саен Ю.Е., Смирнова Р.С. Методические рекомендации по оценке степени загрязнения атмосферного воздуха населенных пунктов металлами по их содержанию в снежном покрове и почве. – М.: ИМГРЭ, 1990. – 9 с.
5. Водяницкий Ю.Н. Тяжелые и сверхтяжелые металлы и металлоиды в загрязненных почвах. – М.: ГНУ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева Россельхозакадемии», 2009. – 95 с.
6. Казнина Н.М. Влияние свинца и кадмия на рост, развитие и некоторые другие физиологические процессы однолетних злаков: Ранние этапы онтогенеза: автореф. дис. ... к.б.н. – Петрозаводск: ИБ КНЦ РАН, 2003. – 26 с.
7. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. ГОСТ 12038-84.
8. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants // Plant Physiol. – 1977. – V. 59, № 2. – P. 309–314.
9. Рогожин В.В. Методы биохимических исследований: учебное пособие. – Якутск, 1999. – 93 с.
10. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
11. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
12. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and Carotenoids Pigments of Photosynthetic Biomembranes // Method. Enzymol. – 1987. – V. 148. – P. 350–382.
13. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. – М.: Наука, 1983. – 304 с.
14. Гланц С.А. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
15. Michalak A. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress // Polish J. of Environ. Stud. – 2006. – V. 15, № 4. – P. 523–530.
16. Дымова О.В., Головки Т.К. Состояние пигментного аппарата растений живучки ползучей в связи с адаптацией к световым условиям произрастания // Физиология растений. – 2007. – №1. – С. 47 – 53
17. Шербатюк А.С., Русакова Л.В., Янькова Л.С. Состояние пигментного комплекса растений при техногенном загрязнении среды // Оценка состояния водных и наземных экологических систем / Под ред. О.Н. Кожева, И.К. Бокова. – Новосибирск: Наука, 1994. – С. 131–135.
18. Малева М.Г., Некрасова Г.Ф., Борисова Г.Г. и др. Влияние тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат и антиоксидантный статус Элодеи // Физиология растений. – 2012. – № 2. – С.216–224.
19. Некрасова Г.В., Ушакова О.С., Ермаков А.Е. и др. Действие ионов меди (II) и наночастиц оксидов меди на *Elodea densa* Planch // Экология. – 2011. – № 6. – С.422–428.

Поступила в редакцию 06.08.2014