

ЭКОЛОГИЯ

МРНТИ 87.15.03, 34.29

К.Р. Утеулин¹, Е.А. Бекешев³, М.К. Амрин³,
Н.В. Курбатова³, О.А. Федорина³, Е.Ю. Степанова³,
Ч.Ж. Алдасугурова³, А.Б. Атыгаев²

¹Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан

²Национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

³Научно-исследовательский центр «Фарыш-Экология»,
г. Алматы, Казахстан

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНАТОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ НЕКОТОРЫХ ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ, ВЫРАЩЕННЫХ НА ПОЧВАХ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕСИММЕТРИЧНЫМ ДИМЕТИЛГИДРАЗИНОМ

Аннотация. Проведены сравнительные исследования анатомической структуры вегетативных органов двух дикорастущих видов злаков: *Agropyron fragile* (Roth) Candargy, *Stipa sareptana* A. Beck и полыни: *Artemisia terrae-albae* Krasch, выращенных в течение года на образцах почвы загрязненных НДМГ (10 мг/кг). Цель работы - оценка возможности использования изменений анатомической структуры растений дикорастущих видов для биоиндикации загрязнений среды ракетным топливом - несимметричным диметилгидразином (НДМГ). В результате исследований, установлено увеличение толщины первичной коры корня злаков и стебля полыни с участков загрязненных НДМГ. Фактором, указывающим на накопление НДМГ в корнях злаков *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* и в корне и стебле полыни *Artemisia terrae-albae*, может служить изменение анатомической структуры, в частности увеличение толщины основной паренхимной ткани первичной коры. Изменение толщины запасной паренхимной ткани первичной коры корня злаков *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* и в стебля, побегов полыни *Artemisia terrae-albae* может служить биоиндикатором загрязнений почвы НДМГ.

Ключевые слова: анатомические параметры, НДМГ, *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana*, *Artemisia terrae-albae*.

• • •

Түйіндеме. Зерттеулер нәтижесінде дәнді дақылдардың тамыры мен жусанның бастапқы қабығының қалыңдығының АДМГ ластанған учаскелерінен ұлғаюы анықталды. Бұл жұмыстың мақсаты қоршаған ортаны зымыран отыны

Источник финансирования исследований. Республиканская бюджетная программа 008 «Прикладные научные исследования в области космической деятельности и информационной безопасности». Научно-технический проект «Исследование природы загрязнения растений несимметричным диметилгидразином и токсичными продуктами его трансформации». Исследование выполнено в 2018-2020 гг.

– асимметриялық диметилгидразинмен (АДМГ) ластануды биоиндикациялау үшін жабайы өсімдіктердің анатомиялық құрылымындағы өзгерістерді пайдалану мүмкіндігін бағалау болды. Дәнді дақылдардың екі жабайы түрінің вегетативті мүшелерінің анатомиялық құрылымына салыстырмалы зерттеулер жүргізілді: *Agropyron fragile* (Roth) Candargy, *Stipa sareptana* A. Beck және жусан: *Artemisia terrae-albae* Krasch, жыл бойы ластанған АДМГ (10 мг/кг) топырақ үлгілерінде өсіріледі. *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* және *Artemisia terrae-albae* жусан тамыры мен сабағында АДМГ жиналуын көрсететін фактор анатомиялық құрылымның өзгеруі, атап айтқанда бастапқы кортекстің негізгі паренхималық тінінің қалыңдығының артуы болуы мүмкін. *Agropyron* нәзік, *Stipa sareptana* шөптері мен сабағындағы бастапқы тамыр қабығының резервтік паренхималық ұлпасының қалыңдығының өзгеруі, жусан *Artemisia terrae-albae* өсімділері топырақтың UDMH-мен ластануының биоиндикаторы бола алады.

Түйінді сөздер: анатомиялық параметрлер, АДМГ, *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana*, *Artemisia terrae-albae*.

Abstract. Findings of the research have established an increase in thickness of primary bark of cereals roots and stems of wormwood from sites contaminated with UDMH. Purpose of this research was to assess possibility of using changes in the anatomical structure of wild species for bioindication of environmental pollution with rocket fuel - unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH). Thickening of primary bark is mainly attributed to an increase in thickness of a main tissue - storage parenchyma. Parenchyma performs a number of functions: assimilation, secretory, support ones and it is involved in gas exchange. In addition, the most important function of parenchyma is accumulation and storage of nutrients (arbohydrides, proteins, oils), water, substances dissolved in water, including pollutants of the environment and plants, for example, herbicides, heavy metals and UDMH. Change in the anatomical structure, in particular, an increase in thickness of the main parenchymal tissue of the root, may be used as a factor indicating accumulation of UDMH in roots of *Agropyronfragile*, *Stipasareptana* grasses and in root and stem of wormwood *Artemisiaterrae-albae*. Changes in the thickness of the spare parenchymal tissue of the primary root cortex of the *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* and in the stem and shoots of *Artemisia terrae-albae* can serve as a bioindicator of soil contamination with UDMH.

Keywords: anatomical parameters, UDMH, *Agropyronfragile*, *Stipasareptana*, *Artemisiaterrae-albae*.

Введение. На сегодняшний день весьма вероятно перспективы использования изменений анатомической структуры растений в качестве биоиндикаторов для выявления загрязнения среды АДМГ. Биоиндикация загрязнений среды более адекватна, так как - это реакция живых организмов. При рассмотрении анатомической структуры корней и стеблей растений, важная роль отводится первичной коре, которая представляет собой периферическую зону стебля и

корня, находящуюся между центральным цилиндром и эпидермой в стебле и между центральным цилиндром и ризодермой в корне. Первичная кора представлена тканями: колленхимой, склеренхимой, фотосинтезирующей и запасающей паренхимой – в стебле и экзодермой, основной, запасающей паренхимой, слоем клеток эндодермы – в корне. Утолщение первичной коры обусловлена в основном утолщением её основной запасающей ткани - запасающей паренхимы. Паренхима выполняет ряд жизненно важных для растительного организма функций: ассимиляционную, секреторную, опорную, участвует в газообмене. Ведущими функциями паренхимы являются запасаение и хранение питательных веществ (углеводы, белки, жиры), воды, растворенных в воде веществ, в том числе веществ-загрязнителей среды и растений, например, гербициды, тяжелые металлы и другие соединения. Обычно запасные вещества накапливаются внутри клетки, но могут откладываться и в клеточной стенке. Местом хранения резервных веществ может быть также паренхима проводящих тканей [1].

Запасающая паренхима образована тонкостенными живыми клетками с хорошо развитыми вакуолями. Как известно, вакуоли удаляют из клетки потенциально токсичные вещества, такие как тяжелые металлы, гербициды [2]. Несимметричный диметилгидразин (НДМГ, гептил, 1,1-диметилгидразин) используется в качестве жидкого ракетного топлива в двигателях ракет космического назначения. Падение отработавших ступеней ракетоносителей «Протон» несёт с собой угрозу токсичного загрязнения окружающей среды не-отработанным ракетным топливом и продуктами его трансформации [3-5]. Потенциальная опасность НДМГ для окружающей среды определяется неограниченной растворимостью в воде, высокой летучестью, способностью к миграции, накоплению, стабильностью в почве и растениях. Из почвы НДМГ мигрирует в растения, которые активно его усваивают. НДМГ канцерогенное соединение, относится к первому классу опасности для человека. НДМГ представляет реальную угрозу, идущую по пищевым цепям овощи, фрукты, молоко, мясо животных, проникая в организм человека [6]. В связи с этим актуальны методы оценки загрязнения среды и растений НДМГ. Известные физико-химические методы требуют для анализа большой фитомассы (несколько кг). Актуальны вопросы разработки микрометодов, то есть с использованием небольшой фитомассы (несколько грамм).

Цель работы - оценка возможности использования изменений анатомических структур дикорастущих видов растений для биоиндикации загрязнений среды НДМГ.

Объекты исследований - дикорастущие виды растений: полынь белоземельная (*Artemisia terrae-albae* Krasch.), пырей ломкий или сибирский (*Agropyron fragile* (Roth) Candargy), ковыль сарептский (*Stipa sareptana* A. Beck.), которые были собраны на экспериментальных площадках Института биологии и биотехнологии растений, из искусственно загрязненных НДМГ (10 мг/кг) и контрольных образцах почвы.

Методы исследований. Микроскопические исследования проведены на растительном материале, который был зафиксирован в смеси спирта, глицерина и воды в соотношении 1:1:1. При изготовлении и описании препаратов использовались общепринятые в анатомии растений методы [6-8]. Микроскопические исследования проводили при определении анатомических особенностей корней и стеблей. Анатомические препараты были изготовлены с помощью микротомы с замораживающим устройством ОЛ-3СО (Инмедпром, Россия). Для количественного анализа проведено измерение морфометрических показателей с помощью окуляр-микрометра МОВ-1-15 (при объективе x 10, увеличении x 40,10,7). Микрофотографии анатомических срезов были сделаны на микроскопе МС 300 (Micros, Австрия) с видеокамерой САМ V400/1.3М (jProbe, Япония).

Результаты и обсуждение. За отчетный период проведены микроскопические исследования анатомической структуры корней и стеблей растений дикорастущих видов (*Agropyron fragile*, *Stipa sareptana*, *Artemisia terrae-albae*), выращенных на образцах почвы загрязненных НДМГ (100 ПДК). Загрязнение образцов почвы в горшках было проведено в июне 2019 г. на открытой экспериментальной площадке. Сбор растений для изучения осуществлен в июле 2020 г. Контролем служили растения дикорастущих видов (*Agropyron fragile*, *Stipa sareptana*, *Artemisia terrae-albae*), выращенные параллельно с опытными растениями на образцах почвы незагрязненной НДМГ. Спустя год содержание НДМГ в образцах почвы снижалось значительно. Однако остаточный в образцах почвы НДМГ биоиндексировался. Отмечено увеличение толщины первичной коры корня у растений - злаков и первичной коры стебля у полыни с участков загрязненных НДМГ.

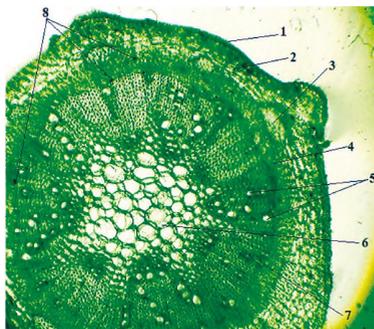
Были получены следующие результаты: на рисунке 1 отражено анатомическое строение корней пырея ломкого (*Agropyron fragile*), с

Основываясь на результатах таблицы 1, следует отметить, что толщина первичной коры у растений с загрязнённого участка наиболее выражена (13,80 мкм), нежели у растений контрольного участка (9,3 мкм), а диаметр центрального цилиндра имеет обратную закономерность, т.е. у растений с загрязнённого участка он меньше (34,3 мкм), чем у растений с контрольного участка (59,3 мкм). В отношении площади элементов ксилемы, можно отметить отклонения с незначительным увеличением ($0,1 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$) площади сосудов у растений с загрязнённого участка. На рисунке 2 отражено анатомическое строение корней ковыля сарептского (*Stipa sareptana*), с загрязнённого участка и контрольный образец. Снаружи корень покрыт однослойной эпиблемой, за которой располагаются несколько рядов периферических клеток первичной коры (экзодерма). Количество рядов периферических клеток у растений с загрязнённого участка составляет – 5-7, расположены более рыхло, а в контрольном образце количество рядов меньше – 4-5 и расположены они более плотно и упорядоченно. Следовательно, экзодерма, образуемая из нескольких рядов клеток наиболее выражена у растений с загрязнённого участка. Далее расположены клетки запасующей паренхимы первичной коры. Клетки имеют округлую форму, тонкостенные и располагаются идентично, как в первом, так и во втором образцах. Внутренний однорядный слой плотно прилегающих одна к другой клеток первичной коры представлен эндодермой. Её клетки имеют некоторые структурные особенности, которые немного изменены (уплотнены, заужены) у растений загрязнённого участка. Эти изменения уменьшают поступление воды и водных растворов от корневых волосков к центральному цилиндру, выполняя роль физиологического барьера. Центральный цилиндр представлен элементами флоэмы и ксилемы. Отмечено, что в структурах центрального цилиндра встречаются многочисленные клетки механической ткани (склеренхима), которые занимают центральное положение в корне. Анатомические параметры корней представлены в таблице 2.

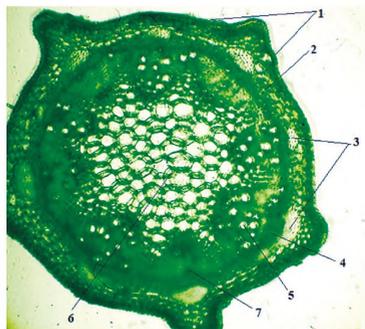
Основываясь на результатах таблицы 2, следует отметить, что толщина первичной коры у растений с загрязнённого участка наиболее выражена (22,40 мкм), нежели у растений контрольного участка (19,8 мкм), та же закономерность отмечена и по диаметру центрального цилиндра у растений с загрязнённого участка – 97,7 мкм и 76,4 мкм с контрольного участка. В отношении площади элементов кси-

проведены микроскопические исследования стебля полыни белоземельной.

На рисунке 4 отражено анатомическое строение стеблей полыни белоземельной, с загрязненного участка и контрольный образец. Стебель снаружи покрыт 2-3-х слойной эпидермой, под которой располагается первичная кора. Снаружи стебель имеет выраженную ребристость, которая в большей степени прослежена в контрольном образце. Наружная поверхность клеток эпидермы утолщена за счёт толстого слоя кутикулы (загрязненный участок). Под эпидермой расположена склеренхима и несколько слоев паренхимных клеток. Механическая ткань представлена группами клеток, которые наиболее чётко прослеживаются в уголках ребристости стеблей. Проводящие пучки – коллатеральные открытые. Между флоэмой и ксилемой располагается непрерывный слой камбия. Количество ксилемных сосудов увеличено и они мельче у растений с загрязненного участка, у растений с контрольного участка количество сосудов ксилемы меньше, но при этом они крупнее и располагаются в более упорядоченном порядке. Флоэма сверху имеет склеренхимную обкладку, состоящую из лубяных волокон. В самом центре стебля расположена сердцевинная паренхима, которая имеет более рыхлую структуру округлых клеток, а на загрязненном участке отмечено, что клетки сердцевинны более мелкие. В структурах стебля, у растений с загрязнённого участка, отмечаются точечные включения. Анатомические параметры стеблей представлены в таблице 4.



загрязнённый участок



контрольный участок

1 – эпидерма, 2 - первичная кора, 3 – участки склеренхимы, 4 - флоэма, 5 – сосуды ксилемы, 6 – сердцевина, 7 – камбий, 8 - включения

Рисунок 4 - Анатомическое строение стебля *Artemisia terrae-albae* (x 70)

**Таблица 4 – Анатомические параметры стебля
Artemisia terrae-albae Krasch**

Участок	Толщина первичной коры, мкм	Диаметр центрального цилиндра, мкм	Площадь ксилемных сосудов, $\times 10^{-3} \text{мм}^2$
Загрязнённый	7,0 \pm 0,4	107,0 \pm 8,2	62,0 \pm 2,3
Контрольный	6,0 \pm 0,2	82,0 \pm 5,5	70,5 \pm 3,1

Основываясь на результатах таблицы 4, следует отметить, что толщина первичной коры стебля у растений с загрязнённого участка наиболее выражена (10,7 мкм), нежели у растений контрольного участка (8,2 мкм), а диаметр центрального цилиндра имеет обратную закономерность, т.е. у растений с загрязнённого участка он меньше (62,04 мкм), чем у растений с контрольного участка (70,46 мкм). В отношении площади элементов ксилемы, можно отметить отклонения с незначительным увеличением ($0,1 \times 10^{-3} \text{мм}^2$) площади сосудов у растений с загрязнённого участка. Таким образом, увеличение толщины первичной коры испытанных дикорастущих видов растений свидетельствует о накоплении НДМГ в паренхимной ткани. Биоиндикатором и фактором накопления НДМГ в корне злаков *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* и в стебле полыни *Artemisia terrae-albae* является анатомический параметр - увеличение толщины запасной паренхимной ткани первичной коры. Так же, можно предположить, что НДМГ, подобно другим соединениям загрязнителей, накапливается в вакуолях клеток паренхимы.

Следовательно, можно сказать, что, каждое растение имеет свой лимит адаптивных возможностей, что зависит от морфологической особенности вида. *Artemisia terrae-albae*, *Agropyron fragile* и *Stipa sareptana* - характеризуются положительной анионогенной биохимической специализацией. Происходят изменения анатомической структуры, как в надземных, так и в подземных вегетативных органах растений. Растения из разных семейств имеют неодинаковую способность аккумулировать химические соединения. Наиболее подверженными анатомическими структурами у изученных растений, как, показывает проведённое исследование являются: проводящие пучки (размеры, количество, площадь), клетки первичной коры (размеры, количество, плотность, толщина, включения), составляющие центрального цилиндра (диаметр, количество механической ткани, её локализация, включения), клетки эпидермиса (увеличиваются толщина, размеры, степень кутинизации). В условиях загрязнения наблюдается уменьшение площади проводящих пучков, размер которых на загрязнённом

участке меньше по сравнению с контрольными вариантами. Увеличение толщины первичной коры свидетельствует об усилении её основных функций: запасание питательных, транспорте веществ из почвы в центральный цилиндр, защите центрального цилиндра.

Следует отметить, что в результате проведенного исследования, было показано, что в ответ на загрязнения НДМГ образцов почвы, увеличивается толщина первичной коры стебля полыни, но не корня. Этот результат свидетельствует о преимущественном накоплении НДМГ в стебле полыни. Данный результат согласуется с литературными данными [9,10] о накоплении НДМГ органами растений полыни (*Artemisia pausiflora*). Согласно литературным данным, содержание НДМГ в надземной части (стебель, побеги, листья) полыни превышает содержание НДМГ в корнях в 6-7,5 раз. В месте падения остаточных частей ступеней ракет содержание НДМГ в надземной части полыни равно 7,5 мг/кг, в корне 1 мг/кг. На расстоянии 70 м от места падения содержание НДМГ в надземной части равно 0,5 мг/кг, в корне 0,08 мг/кг. На расстоянии 20 км от мест падения содержание НДМГ в надземной части равно 0,25 мг/кг, в корне 0,04 мг/кг.

Выводы. Фактором, указывающим на накопление НДМГ в корнях злаков *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* и в корне и стебле полыни *Artemisia terrae-albae*, может служить изменение анатомической структуры, в частности увеличение толщины основной паренхимной ткани первичной коры. Изменение толщины запасной паренхимной ткани первичной коры корня злаков *Agropyron fragile*, *Stipa sareptana* и стебля, побегов полыни *Artemisia terrae-albae* может служить биоиндикатором загрязнений почвы НДМГ.

Список литературы

- 1 Лотова Л.И. Морфология и анатомия высших растений.- М: Эдиториал УРСС. 2001. - 528 с.
- 2 Нуржанова А.А. Растения-фиторемедианты казахстанской флоры. Республика Казахстан, Алматы. 2019.-228 с.
- 3 Carlsen L., Kenesso B.N., Batyrbekova S.Y. A QSAR\QSTR on the environmental health impact by the rocket fuel 1.1-dimethyl hydrazine and its transformation products.\\ Environmental Health Insights.- 2008- V. 1, - pp. 11-20; doi:10.4137/EHI.S889.
- 4 Суйменбаев Б.Т., Максим Д.Г., Куликов Ф.А. Экологическая безопасность эксплуатации ракетно-космических комплексов. М.: МАИ. 1997.- 43 с.

5 *Carlsen, L.; Kenesova, O.A.; Batyrbekova, S.E.* A preliminary assessment of the potential environmental and human health impact of unsymmetrical dimethylhydrazine as a result of space activities// Chemosphere. 2007- № 6.- pp. 1108–1116.

6 *Кондратьев А.Д.* Влияние низких концентраций несимметричного диметилгидразина на активные формы кислорода в объектах окружающей среды : Диссертация кандидата химических наук: 03.00.16 Москва. 2005.- 115 с. РГБ ОД, 61:05-2/501.

7 *Пермяков А.И.* Микротехника.- М.: МГУ. 1988.- С. 11-29.

8 *Прозина М.Н.* Ботаническая микротехника. - М.: МГУ.. 1960. - 260 с.

9 *Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г.* Справочник по ботанической микротехнике.- М.: МГУ. 2004.- 313 с.

10 *Королева Т.В.* Ландшафтно-геохимический анализ загрязнений несимметричным диметилгидразином районов падений первых ступеней космических ракет (Центральный Казахстан). Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата географических наук. Москва-1995 г. Научный руководитель Н.С. Касимов.

Утеулин К.Р. - доктор биологических наук, e-mail: gen_uteulink@mail.ru

Курбатова Н.В. - кандидат биологических наук,
e-mail: kurbatova_nv77@mail.ru

Степанова Е.Ю. - главный научный сотрудник,
e-mail: stepanova.e@gh-ecology.kz

Федорина О.А. - ведущий научный сотрудник,
e-mail: fedorina.o@gh-ecology.kz

Алдасугурова Ч.Ж. - преподаватель,
e-mail: aldasygyrova.chinar.77@gmail.com

Атыгаев А.Б. - докторант PhD, e-mail: newanuar@gmail.com