

К.Р.Утеулин¹, О.А. Агапов², О.А.Федорина²,
А.Б.Атагаев³, Н.З.Ахтаева³

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

²Научно-исследовательский центр «Фарыш-Экология», г. Алматы, Казахстан

³Казахский Национальный университет им. аль-Фараби,
г. Алматы, Казахстан

ВЛИЯНИЕ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА НА АНАТОМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Аннотация. Исследована анатомическая структура проростков злаков, выращенных на образцах почвы, загрязненных несимметричным диметилгидразином (НДМГ). Показано, что на загрязненных образцах почвы НДМГ 5 и 25 мг/кг, уменьшается толщина ризодермы и первичной коры корней проростков неустойчивого к НДМГ окультуренного злака *Triticum aestivum*, сорт Саратовская-29 и, напротив, увеличивается толщина ризодермы и первичной коры корней проростков устойчивого к НДМГ дикорастущего злака *Agropyron pectiniforme*. Таким образом, защитная реакция проростков злаков на стрессовый фактор - загрязнения почвы НДМГ, включает в себя изменения анатомической структуры корня. Устойчивость проростков дикорастущего злака *Agropyron pectiniforme* к загрязнениям почвы НДМГ обеспечена увеличением толщины тканей корня растения: ризодермы и первичной коры. Изменения количественно-анатомических параметров ризодермы, первичной коры, центрального цилиндра корня, эпидермиса листа высоко чувствительного и неустойчивого к НДМГ окультуренного злака *Triticum aestivum*, сорт Саратовская-2 могут служить биоиндикаторами загрязнений образцов почвы НДМГ.

Ключевые слова: несимметричный диметилгидразин, проростки злаков, *Triticum aestivum*, сорт Саратовская-29, *Agropyron pectiniforme*.

• • •

Түйіндеме. Симметриялық емес диметилгидразинмен ластанған (СЕДМГ) топырақ үлгілерінде өсірілген дақылдар өскіндерінің анатомиялық құрылымы зерттелген. СЕДМГ ластанған топырақ үлгілерінде 5 және 25 мг/кг Саратов сұрыпты, *Triticum aestivum* мәдениленген дақылдың СЕДМГ-ге төзімсіз өскіндер тамырының ризодермасының және алғашқы тамырының қалыңдығының

Источник финансирования исследований. Республиканская бюджетная программа 008. Republican budget program 008. «Прикладные научные исследования в области космической деятельности». Научно-технический проект: «Исследование природы загрязнения растений несимметричным диметилгидразином и токсичными продуктами его трансформации». Республиканское государственное предприятие. Научно-исследовательский центр «Фарыш-Экология». Аэрокосмический комитет Министерства оборонной и аэрокосмической промышленности Республики Казахстан.

азаятыны және керісінше жабайы өсетін *Agropyron pectiniforme* дақылына СЕДМГ-ге тұрақты өскіндер тамырының ризодерма қалыңдығы және алғашқы тамырының қалыңдығының үлкейетіні көрсетілді. Осылайша стрестік фактор – топырақтың СЕДМГ ластануына өскіндердің қорғаныс реакциясы тамырдың анатомиялық құрылымының өзгеруінен тұрады. Жабайы өсетін дақыл *Agropyron pectiniforme* өскіндерінің НДМГ топырақтың ластануына тұрақтылығы өсімдік тамырының тінінің жуандығының өсуімен: ризодерма және алғашқы қабықтың өсуімен қамтамасыз етіледі. Ризодерманың, алғашқы қабықтың, тамырдың орталық цилиндрінің, жоғары сезімтал жапырақ эпидермисінің және СЕДМГ-ге төзімсіз мәдениленген дақыл *Triticum aestivum*, Саратовская-2 сұрыбы СЕДМГ топырақ үлгісінің ластануының биоиндикаторы ретінде қызмет етеді.

Түйінді сөздер: Симметриялық емес диметилгидразин, астық өскіндері, *Triticum aestivum*, Саратовская-29 сұрыбы, *Agropyron pectiniforme*.

• • •

Abstract. We have researched anatomical structure of cereal seedlings grown at soil samples contaminated by unsymmetrical dimethyl hydrazine (UDMH). It was demonstrated that at soil samples, contaminated by (UDH): 5 mg/kg and 25 mg/kg nonresistant to UDMH, were used to cultivate cereal *Triticum aestivum*, variety *Saratovskaya-29* had depleted thickness of rizodermis and primary cortex of seedling roots, on the contrary resistant to UDMH wild-growing type of cereal *Agropyron pectiniforme* had increased thickness of rizodermis and primary cortex of seedling roots/ In view of this, defense reaction of cereal seedlings to stress factor, the soil contaminant UDMH, includes changes in anatomical structure of the root. The resistance seedlings of wild-growing type of cereal *Agropyron pectiniforme* to soil contaminant UDMH is ensured by increasing thickness of the plant root tissues: rizodermis and primary cortex. Changes in quantitative-anatomical parameters of rizodermis, primary cortex, root central tube, leaf epidermis of highly sensitive and nonresistant to (UDH) cultivated cereal *Triticum aestivum*, variety *Saratovskaya-2* can be served as biological indicators of soil samples contamination by UDMH.

Keywords: Unsymmetrical dimethyl hydrazine (UDH), anatomy, seedlings, *Triticum aestivum*, variety *Saratovskaya-29*, *Agropyron pectiniforme*.

Введение. Несимметричный диметилгидразин (UDMH) широко используется в качестве жидкого ракетного топлива в космических, ракетных системах. В Казахстане падение первых ступеней ракет, запущенных с космодрома Байконур, сопровождается разливом от 0,6 до 4 т несгоревшего топлива, из которых 10–30 кг достигают земли и впоследствии распространяются в почве и воде [1]. Подсчитано, что негативное влияние космической деятельности распространяется до 500 тыс. км² или 19% территории Республики [2] с хрупкой и уникальной экосистемой [3,4]. Согласно данным исследований образцов

почвы районов падения ступеней ракет, UDMH и продукты его трансформации могут сохраняться в почве течение 30 лет [5].

Доказано, что НДМГ является летучим, высокотоксичным, канцерогенным и мутагенным веществом [6], которое может вызывать опухоли легких, печени, пищеварительной системы, и кожи [7]. Очевидно, что НДМГ переносится в организм человека по пищевой цепи: загрязненная почва, вода, воздух, → растения → растительноядные животные → продукты питания → человек. Однако в данной цепи звено – растения на образцах почвы загрязненных НДМГ изучено недостаточно. Воздействие НДМГ на окружающую среду является важной проблемой гигиены труда [8].

Цель исследования - установление изменений количественно-анатомических параметров проростков пшеницы Саратовская-29 и их сравнение с подобными изменениями дикорастущего злака пырея гребневидного на образцах почвы, загрязненной НДМГ. Изучение анатомической структуры является одним из доступных и признанных методов выявления защитных возможностей растений к стрессовым факторам окружающей среды.

Объекты исследований. Мягкая пшеница (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская-29, пырей гребневидный (*Agropyron pectiniforme*), лист, корень проростков.

Методы исследования. В работе использованы известные методы прорастания семян [9] и изучения фитотоксичности почвы [10-12]. Эксперименты проводили в чашках Петри. В каждую чашку Петри, заполненную образцом серо-бурой супесчаной почвы массой 50 г вносили раствор НДМГ объемом 20 мл в определенной концентрации и тщательно перемешивали. Использованы три концентрации НДМГ в образцах почвы: 1; 5 и 25 мг/кг.

Отобранные для опыта семена (по 20 шт.) размещались равномерно в чашки Петри с опытными (с НДМГ) и контрольными образцами почвы. Проращивание семян проводилось при температуре + 23°C. На 14-е сутки проведена оценка анатомической структуры проростков.

Фиксацию растений проводили в 70% спирте. Анатомические препараты готовили с помощью микротомы с замораживающим

*** При обсуждении влияния НДМГ на биологические объекты в период времени более суток, термин НДМГ следует использовать как собирательный, он включает НДМГ и широкий ряд продуктов его трансформации: метилгидразин (МГ), триметилгидразин (ТМГ), нитрозодиметиламин (НДМА), N,N – диметиламин (ДМА), метан, азот, аммиак и другие.

устройством ТОС-2, срезы заключали в глицерин в соответствии с общепринятыми методиками Прозиной М.Н. [13], Барыкиной Р.П. [14]. Толщина анатомических срезов равна 10 мкм. Подготовлено более 50 временных препаратов. Для количественного анализа проведено измерение морфометрических показателей с помощью компьютерной программы. Микрофотографии сделаны на микроскопе МС-300 (увеличение $\times 180$). В работе использован НДМГ (98%, без примесей) чистый, фирмы Sigma-Aldrich.

Результаты и обсуждение. Изменение анатомических показателей корня проростков мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) Саратовская-29 на образцах почвы, загрязненных НДМГ

Исследована анатомическая структура корня проростков мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) Саратовская-29 на образцах почвы, с внесенным НДМГ в концентрациях: 1; 5 и 25 мг/кг. Получены следующие результаты. Корень проростка пшеницы покрыт ризодермой (покровно-всасывающей тканью), которая представлена слоем клеток, плотно расположенными по отношению друг к другу. Толщина ризодермы корней проростков пшеницы равна $0,16 \pm 0,01$ мм на контрольном образце почвы и $0,18 \pm 0,01$; $0,14 \pm 0,01$ и $0,11 \pm 0,01$ мм на образцах почвы с содержанием НДМГ 1; 5 и 25 мг/кг, соответственно. То есть, при относительно низком содержании НДМГ 1 мг/кг в образце почвы толщина ризодермы увеличивается, и при большем содержании уменьшается относительно контроля. Вероятно, изменения анатомических параметров тканей растений сопряжены с усилением или угнетением и их функций. Так, например, НДМГ в низких концентрациях стимулирует и в высоких концентрациях ингибирует проницаемость ризодермы для веществ из внешней среды.

Под ризодермой расположена первичная кора, которая занимает большую часть объема корня. Первичная кора корней проростков пшеницы состоит из экзодермы, мезодермы и эндодермы. Первичная кора выполняет запасную функцию, в мезодерме проходит обмен веществ и накопление различных метаболитов. А также первичная кора выполняет транспортную функцию, обеспечивает транспорт воды и минеральных веществ от всасывающего слоя экзодермы к проводящему центральному цилиндру [15]. Толщина первичной коры корня проростков пшеницы составляет $1,01 \pm 0,06$ мм на контрольном образце почвы и $1,04 \pm 0,02$; $0,86 \pm 0,04$ и $0,86 \pm 0,02$ мм на образцах почвы с содержанием НДМГ 1; 5 и 25 мг/кг, соответственно. То есть,

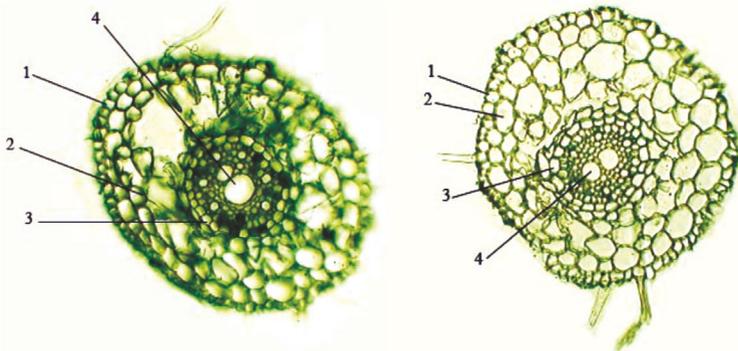
при относительно низком содержании НДМГ 1 мг/кг в образце почвы толщина первичной коры не изменяется, и при большем содержании НДМГ (5 и 25 мг/кг) уменьшается относительно контроля.

Под мезодермой, расположен слой плотно сомкнутых клеток эндодермы.

Клетки эндодермы участвует в регуляции поступления воды и минеральных веществ в центральный цилиндр, сплошным слоем окружают его [15]. При внесении в образцы почвы различных концентраций НДМГ изменения толщины слоя клеток эндодермы корня проростков пшеницы не обнаружены. Как известно, центральный цилиндр корня сформирован следующими тканями: флоэма (функция - транспорт продуктов фотосинтеза) и ксилема (функция-транспорт воды и минеральных солей), паренхима (функция-запасание питательных веществ и воды) и перицикл (функция формирования боковых корней) [15].

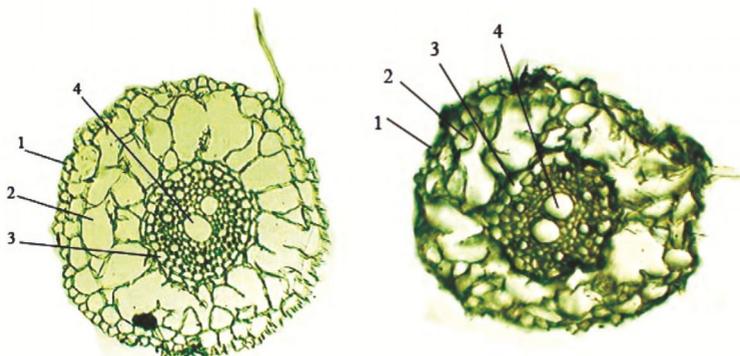
Диаметр центрального цилиндра корня проростков пшеницы равен $1,27 \pm 0,06$ мм на контрольном образце почвы и $1,35 \pm 0,01$; $1,01 \pm 0,04$ и $1,01 \pm 0,08$ мм на образцах почвы с содержанием НДМГ 1; 5 и 25 мг/кг, соответственно. Вероятно, НДМГ в относительно низких концентрациях (1 мг/кг) стимулирует и в больших концентрациях (5 и 25 мг/кг) ингибирует функции центрального цилиндра.

Анатомическое строение корня проростков пшеницы *Triticum aestivum*, сорт- Саратовская-29 продемонстрировано на рисунке 1.



1- ризодерма, 2- мезодерма 3- эндодерма, 4- ксилема. Контроль.

1- ризодерма, 2- мезодерма 3- эндодерма, 4- ксилема. НДМГ (1 мг /кг) внесен в образцы почвы.



1-ризодерма, 2- мезодерма 3- эн-
додерма, 4-ксилема. НДМГ (5 мг /кг)
внесен в образцы почвы.

1-ризодерма, 2- мезодерма 3- эндо-
дерма, 4-ксилема. НДМГ (25 мг /кг)
внесен в образцы почвы.

Рисунок 1 – Анатомическая структура проростков корня пшеницы *Triticum aestivum*, сорт – Саратовская-29

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что толщина тканей (ризодермы, первичной коры, центрального цилиндра) корня проростков пшеницы Саратовская-29 относительно контроля увеличивается или не меняется в образцах почвы с относительно низкой концентрацией НДМГ 1 мг/кг и уменьшается при относительно высоких концентрациях НДМГ 5 и 25 мг/кг в образцах почвы. Очевидно, изменения структуры тканей корня проростков пшеницы, тестируют изменения их функций.

Изменения анатомических показателей листа проростков пшеницы (*Triticum aestivum*), Саратовская-29 на образцах почвы, загрязненных НДМГ. Лист проростков пшеницы снаружи покрыт эпидермисом, толщина верхнего эпидермиса на контрольном образце почвы равна $0,161 \pm 0,008$ мм и на загрязненном образце почвы НДМГ (25,0 мг/кг) – $0,165 \pm 0,008$ мм. Толщина нижнего эпидермиса на контрольном образце почвы равна – $0,169 \pm 0,008$ мм и на загрязненном образце почвы НДМГ (25,0 мг/кг) $0,199 \pm 0,016$ мм. То есть, покровная ткань листа проростков пшеницы утолщена на образцах почвы, с относительно высоким содержанием НДМГ (25 мг/кг). На образцах почвы с относительно низким содержанием НДМГ 1 и 5 мг/кг толщина покровной ткани листа проростков пшеницы не менялась относительно контроля.

Как известно, эпидермис полифункционален, но важнейшей его функцией является защита растений от неблагоприятных внешних факторов и регуляция газо- и парообмена. Вероятно, утолщение эпидермиса листа пшеницы в присутствии НДМГ (25 мг/кг) и летучих продуктов его окисления связано, прежде всего, с его защитной функцией. Кроме этого, элементы эпидермиса принимают участие в фотосинтезе, поглощении воды, питательных веществ и синтезе различных соединений [15].

Заключение. Ранее было показано, что внесенный в образцы почвы НДМГ в концентрациях 1 и 5 мг/кг стимулирует в два раза и в концентрации 25 мг/кг слабо ингибирует всхожесть семян дикорастущего злака *Agropyron pectiniforme*. Тогда, как всхожесть семян окультуренного злака *Triticum aestivum*, сорт – Саратовская -29 не менялась на образцах почвы с содержанием НДМГ 1 мг/кг. Всхожесть семян пшеницы уменьшалась на 50 и 68%, соответственно на образцах почвы с содержанием НДМГ 5 и 25 мг/кг. Окультуренный злак - *Triticum aestivum*, Саратовская-29 принят как неустойчивый, а дикорастущий злак *Agropyron pectiniforme* как устойчивый злак к загрязнению почвы НДМГ [16].

В работе исследована анатомическая структура окультуренной пшеницы Саратовская-29, а также проведено сравнение изменений количественно-анатомических параметров проростков *Triticum aestivum*, сорт Саратовская -29 и *Agropyron pectiniforme* на образцах почвы загрязненных НДМГ (таблица 1). Данное сравнение проведено с целью установления анатомической защитной реакции растения на стресс - загрязнение почвы НДМГ.

Таблица 1 - Изменения толщины тканей корня и листа проростков мягкой пшеница (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская -29 и пырея гребневидного (*Agropyron pectiniforme*) на образцах почвы загрязненных НДМГ

	НДМГ в образце почвы, мг/кг		
	1	5	25
	Толщина ризодермы корня		
Неустойчивый злак	Увеличивается	Уменьшается	Уменьшается
Устойчивый злак	Увеличивается	Увеличивается	Увеличивается
	Толщина первичной коры корня		
Неустойчивый злак	Не меняется	Уменьшается	Уменьшается
Устойчивый злак		Увеличивается	Увеличивается

	Диаметр центрального цилиндра корня		
Неустойчивый злак	Увеличивается	Уменьшается	Уменьшается
Устойчивый злак	Не меняется	Не меняется	Уменьшается
	Толщина верхнего эпидермиса листа		
Неустойчивый злак	Нет отличий	Нет отличий	Увеличивается
Устойчивый злак	Увеличивается	Увеличивается	Увеличивается

Примечание. Неустойчивый к НДМГ злак – окультуренная мягкая пшеница (*Triticum aestivum*), сорт Саратовская -29. Устойчивый к НДМГ злак – дикорастущий злак пырей гребневидный (*Agropyron pectiniforme*). Результаты исследований изменений количественно-анатомических показателей тканей проростков *Agropyron pectiniforme* опубликованы в статье [16] и использованы для обсуждения в настоящей работе.

Согласно данным, представленных в таблице, на образцах почвы с содержанием НДМГ 5 и 25 мг/кг, толщина ризодермы и первичной коры корня устойчивого злака увеличивается и неустойчивого злака уменьшается. Вероятно, увеличение толщины ризодермы и первичной коры корня сопряжено с усилением функций этих тканей, обеспечивает устойчивость растения злака к НДМГ. По направлению изменений количественных параметров центрального цилиндра корня устойчивый злак не отличается от неустойчивого на образцах почвы с содержанием НДМГ 25 мг/кг. В этих условиях, диаметр центрального цилиндра корня устойчивого и неустойчивого злаков уменьшается. Однако на образцах почвы с 5 мг/кг НДМГ диаметр центрального цилиндра устойчивого злака увеличивается, а неустойчивого злака уменьшается.

Толщина верхнего эпидермиса листа устойчивого и неустойчивого злаков увеличивается в условиях загрязнения почвы НДМГ 25 мг/кг. Однако на образцах почвы с меньшим содержанием НДМГ (1 и 5 мг/кг) толщина эпидермиса устойчивого злака увеличивается и не меняется неустойчивого злака. На основании анализа полученных результатов сформулированы выводы и основные результаты настоящих исследований.

Выводы, основные результаты. Изменения количественно-анатомических параметров ризодермы, первичной коры, центрального цилиндра корня, эпидермиса листа проростков высоко чувствительного и неустойчивого к НДМГ окультуренного злака *Triticum aestivum*, сорт Саратовская-2 могут быть использованы для биоиндикации загрязнений образцов почвы НДМГ.

На образцах почвы, с содержанием НДМГ 5 и 25 мг/кг, толщина ризодермы и первичной коры корней проростков неустойчивого к НДМГ окультуренного злака *Triticum aestivum*, сорт Саратовская-29 уменьшается и, напротив, толщина ризодермы и первичной коры корня проростков устойчивого к НДМГ дикорастущего злака *Agropyron pectiniforme* увеличивается. Защитная реакция проростков дикорастущего злака *Agropyron pectiniforme* на стрессовый фактор - загрязнения почвы НДМГ, в отличие включает в себя изменения анатомической структуры корня: увеличение толщины ризодермы и первичной коры. Устойчивость проростков дикорастущего злака *Agropyron pectiniforme* к загрязнениям почвы НДМГ обеспечена изменениями анатомической структуры: увеличением толщины ризодермы и первичной коры корня.

Данные результаты могут быть учтены при изучении физиолого-биохимических основ устойчивости растений к НДМГ.

Список литературы

1 Carlsen L., Kenessov B.N., Batyrbekova S.Y. A QSAR/QSTR study on the environmental health impact by the rocket fuel 1,1-dimethyl hydrazine and its transformation products. Environ. Health Insights 2008, 1.

2 Суйменбаев Б.Т., Максим Д.Г., Куликов Ф.А. (1997) Экологическая безопасность эксплуатации ракетно-космических комплексов. – М.: МАИ, 1997. - 43 с.

3 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, 67, 1108–1116.

4 Giles J. Study links sickness to Russian launch site. Nature 2005, 433.

5 The International Science and Technology Center (ISTC). System Analysis of Environmental Objects in the Territories of Kazakhstan, which Suffered Negative Influence through Baikonur Space Port Activity; Final Technical Report of ISTC k451.2; Center of Physical-Chemical Methods of Analysis, Al-Farabi Kazakh National University in Almaty, Kazakhstan, 2006

6 Carlsen L., Kenessov B.N., Batyrbekova S.Y., Kolumbaeva S., Shalakhmetova T.M. Assessment of the mutagenic effect of 1,1-dimethyl hydrazine. Environ. Toxicol. Pharmacol. 2009, 28, 448–452. [CrossRef] [PubMed]

7 Choudhary G., Iiansen H., Donkin S., Kirman C. Toxicol-

logical profile for hydrazines. *US Dep. Health Hum. Serv.* 1997, 5, 1–185

8 Yang Shu_De, Xu Wen_Zhong, Liu Shi_Rui, Zhang Tong, and MA_Mi Selection of UDMH tolerant variant lines of an aquatic reed. *Chinese Journal of Plant Ecology* >> 2005, Vol. 29 >> Issue (5): 781-784. doi: 10.17521/cjpe.2005.0103

9 Карпин В.И., Переправо Н.И., Золотарев В.Н., Рябова В.Э., Шамсутдинова Э.З., Козлова Т.В. Методика определения силы роста семян кормовых культур М.: Изд-во РГАУ – МСХА, 2012. – 16 с

10 Минеева В.Г. Практикум по агрохимии..– Изд. 2-е. – М.: МГУ, 2001. – 689 с

11 Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология. – Изд. 3-е.- М., 2009. - 352 с.

12 Пиртахия Н.В. Биоиндикация химического загрязнения в системе гигиенического мониторинга почвы //Мат. Пленума Научного Совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и МЗ Российской Федерации. 17-19 декабря 2003.

13 Прозина М.Л. Ботаническая микротехника.- М., 1960. – 280 с.

14 Барыкина Р.П. и др. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с

15 Лотова Л.И. Морфология и анатомия высших растений М: Эдиториал УРСС, 2001. — 528 с. ISBN 5-8360-0140-5

16 Агапов О.А, Федорина О.А., Атыгаев А.Б., Утеулин К.Р., Жексенбай А., Казкеев Д., Алдасугурова Ч.Ж., Курбатова Н.В. Влияние несимметричного диметилгидразина на всхожесть семян, рост и анатомические параметры проростков дикорастущих видов растений// Новости науки Казахстана. 2019. - № 1. - С. 210-222.

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

Агапов О.А. - магистр, заместитель начальника отдела экологических программ, e-mail: agaole@mail.ru

Федорина О.А. - кандидат биологических наук, ведущей научный сотрудник, e-mail: olga_fedorina64@mail.ru

Атагаев А.Б. - научный сотрудник отдела экологических программ, e-mail: newanuar@gmail.com

Ахтаева Н.З. - кандидат биологических наук, e-mail: akhtaeva74@gmail.com