

УДК 574.24

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПШЕНИЦЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЖЕЛЕЗА С ГУМИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

Лебедев С.В., Осипова Е.А.

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»,
Оренбург, e-mail: kudryavceva.elen@mail.ru

Статья посвящена оценке изменения элементного состава растений *Triticum vulgare Vill* под воздействием сферических наночастиц железа Fe^0 (диаметром 80 ± 5 нм) и наночастиц магнетита Fe_3O_4 (шириной 50–80 нм и высотой 4–10 нм), а также растворов сульфата железа (II) и сульфата железа (III) в присутствии гуминовых кислот, выделенных из бурого угля Тюльганского месторождения. Растения выращивали в водных растворах этих веществ с концентрациями железа (г/л): 0,1; 0,01; 0,001 и 0,0001, добавляя к каждой пробе водный раствор гуминовых кислот с концентрацией 1 г/л. Элементный состав растений определяли на 7, 14 и 21 дни. В качестве контрольных образцов брали растения, выращенные в водной среде с гуминовой кислотой (1 г/л) без добавления железа. В результате исследования достоверно установлено, что во всех образцах к 7 дню количество свинца и кадмия меньше, чем в контроле. К 14 дню наименьшее содержание свинца наблюдается в опыте с наночастицами магнетита при концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/л, что на 50% ниже, чем в контрольном образце ($p > 0,91$). В условиях нехватки питательных элементов к 21 дню добавление ионных форм железа приводит к увеличению количества свинца в 2 (при концентрациях Fe^{2+} и Fe^{3+} 0,001 г/л) – 2,7 раза ($1 \cdot 10^{-4}$ г/л Fe^{2+}) ($p > 0,95$) по сравнению с контролем. При этом наночастицы железа продолжают снижать показатель биологического накопления свинца до 45% при содержании железа $1 \cdot 10^{-4}$ г/л в виде Fe^0 и Fe_3O_4 ($p > 0,94$). Количество кадмия к 14 дню во всех экспериментальных образцах практически одинаковое. К 21 дню добавление ионных форм железа способствует увеличению содержания кадмия в 1,5–1,75 раза, при этом наночастицы железа уменьшают его содержание на 25%. Количество мышьяка в растениях под действием железа практически не изменяется. Таким образом, наночастицы железа можно использовать для снижения негативного воздействия от свинца и кадмия при производстве экологически чистой продукции.

Ключевые слова: железо, свинец, кадмий, мышьяк, наночастицы, гуминовые кислоты, пшеница

CHANGING THE QUANTITY OF HEAVY METALS IN WHEAT UNDER DIFFERENT FORMS OF IRON WITH HUMIC ACID

Lebedev S.V., Osipova E.A.

Federal State Educational Government-financed Institution of Higher Professional Education
«Orenburg State University», Orenburg, e-mail: kudryavceva.elen@mail.ru

Article evaluates changes in the elemental composition of plants *Triticum vulgare Vill* under the influence of the spherical iron nanoparticles Fe^0 (diameter of 80 ± 5 nm) nanoparticles of magnetite Fe_3O_4 (50–80 nm in width and a height of 4 to 10 nm), as well as solutions of iron sulfate (II) and sulfate, iron (III) in the presence of humic acid extracted from lignite Tyulgansky field. Plants were grown in aqueous solutions of these substances in concentrations of iron (g/l): 0.1; 0.01; 0.001 and $1 \cdot 10^{-4}$ to each sample by adding an aqueous solution of humic acid with a concentration of 1 g/l. The elemental composition of the plants was determined on days 7, 14 and 21 days. As controls, samples were taken plants grown in an aqueous medium with a humic acid (1 g/l) without the addition of iron. The study is well established that in all the samples to 7 day lead and cadmium levels lower than in the control group. By day 14, the lowest lead levels observed in the experiment with magnetite nanoparticles at a concentration of $1 \cdot 10^{-3}$ g/l, which is 50% lower than in the control sample ($p > 0,91$). Given the lack of nutrients by day 21 adding ionic forms of iron leads to increased amounts of lead 2 (at concentrations of Fe^{2+} and Fe^{3+} 0,001 g/l) – 2,7 times ($1 \cdot 10^{-4}$ g/l Fe^{2+}) ($p > 0,95$) compared with the control. At the same time continue to reduce iron nanofoms indicator bioaccumulation of lead and 45% for iron content $1 \cdot 10^{-4}$ g/l as Fe^0 and Fe_3O_4 ($p > 0,94$). Amounts of cadmium by day 14 in all experimental samples are practically identical. By day 21, the addition of ionic forms of iron contributes to increase the cadmium content of 1,5–1,75 times, while nanofoms reduce its iron content of 25%. Amount of arsenic in plants under the action of the iron remains practically unchanged. Thus, nanofoms iron can be used to reduce the effects of lead and cadmium in the production of environmentally friendly products.

Keywords: iron, lead, cadmium, arsenic, nanoparticles, humic acids, wheat

Развитие промышленности и наноиндустрии приводит к тому, что поток высокодисперсных частиц и количество тяжелых металлов, поступающих в окружающую среду, постоянно возрастает.

Многие из тяжелых металлов способны оказывать отрицательное влияние на растения, животных и человека, если

концентрация их доступных форм превышает определенные пределы. Влияние высокодисперсных частиц на живые организмы до настоящего времени изучено недостаточно, что подтверждается большим объемом часто противоречивых данных об их влиянии на природные компоненты [1, 6, 13].

Большое значение для специфической адсорбции тяжелых металлов имеет органическое вещество почв. Комплексы тяжелых металлов с гуминовой кислотой образуются во много раз лучше, чем с фульвокислотами. Гуминовые кислоты – один из основных природных сорбентов, контролирующих биодоступность и транспорт токсичных металлов в природных объектах [8]. Из всех ионов металлов наибольшее удержание гуминовой кислотой наблюдается у железа, меди и цинка [8, 11].

Железо является биогенным элементом, так как принимает участие в окислительных процессах и входит в состав ферментов [5]. Содержание железа в почвах варьируется в пределах 2–3% от ее массы. Однако большая часть минеральных соединений железа находится в почвах в недоступной форме, так как железо образует наиболее прочные комплексы с гуминовыми кислотами [8, 11]. Этот процесс может сопровождаться высвобождением других тяжелых металлов.

Внесение железа в почву не приводит к ожидаемому биологическому эффекту, что связано с быстрым его переходом в окисленную форму – недоступную для растений. В связи с выявленной биологической активностью соединений железа наиболее эффективным методом повышения урожайности культурных растений является фолиарная подкормка растворами органических (в основном хелатов) или неорганических соединений железа. В настоящее время актуальным вопросом является использование различных форм железа (наноформа и ионная) для улучшения посевных качеств семян и повышения урожайности [7] и снижения количества других небιοгенных элементов.

Пахотные земли ряда областей РФ подвержены загрязнению мышьяком, свинцом и кадмием [14]. Поступающие из почвенных растворов токсичные элементы накапливаются в корневой системе и в других органах растений. Через почву по цепям питания эти элементы могут поступать в организм животных и человека [10]. Поэтому особую актуальность приобретает проблема снижения последствий техногенного воздействия на природные объекты и обеспечение получения экологически чистой растениеводческой продукции [9].

Гуминовые кислоты способны в значительной мере трансформировать тяжелые металлы в малоподвижные формы, ограничивая их доступность растениям. Разработка экологических методов детоксикации почв с использованием сорбентов природного происхождения является перспективным направлением научных исследований [15]. Сегодня возлагаются большие надеж-

ды на инновационные препараты для растениеводства, основанные на использовании высокодисперсных частиц [2].

Таким образом, целью исследования явилось сравнительное изучение биологической активности наночастиц и ионных форм железа в присутствии гуминовых кислот в тесте прорастания семян пшеницы *Triticum vulgare Vill* с оценкой изменения количества свинца, кадмия и мышьяка в растительной массе.

Материалы и методы исследования

Объектом воздействия различных форм железа являлись семена озимой пшеницы *Triticum vulgare Vill.*, не обработанные протравителями. Предназначенные для проращивания семена предварительно прогревали при температуре 34°C в течение 7 суток в термостате [3].

При проведении исследования использовали водные растворы гуминовых кислот (ГК), выделенных из бурого угля Тюльганского месторождения [10], растворы сферических наночастиц железа Fe⁰ (диаметром 80 ± 5 нм) (Институт энергетических проблем химической физики РАН, Россия), сульфата железа (II) и сульфата железа (III), а также водные растворы синтезированных наночастиц магнетита Fe₃O₄, которые имеют слегка сплюснутую шарообразную форму шириной от 50 до 80 нм и высотой от 4 до 10 нм [7].

Суспензию наночастиц железа и магнетита, а также растворы сульфата железа (II) и сульфата железа (III) с концентрациями по железу 0,1 г/л готовили, растворяя определенную навеску в дистиллированной воде и обрабатывая их ультразвуком в течение 15 минут. Менее концентрированные растворы 0,01; 0,001 и 0,0001 г/л получали разбавлением дистиллированной водой. Приготовленными растворами поливали семена озимой пшеницы *Triticum vulgare Vill*, добавляя к каждой пробе водный раствор ГК с концентрацией 1 г/л. Контрольные образцы растений выращивали в водной среде с ГК (1 г/л) без добавления железа. Подготовленные таким образом опытные и контрольные пробы оставляли при комнатной температуре на проращивание. Повторность опыта трехкратная.

Определение элементного состава растений проводили на седьмые, четырнадцатые и двадцать первые сутки эксперимента. Содержание трех токсичных элементов: As, Cd и Pb – определяли в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва, аккредитованной в Федеральном центре Госсанэпиднадзора при МЗ РФ (аттестат аккредитации ГСЭН. RU.ЦОА.311), методами атомной эмиссионной спектроскопии с индукционно связанной аргоновой плазмой (АЭС – ИСП) и масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой (МС – ИСП) на приборах Optima 2000 DV и Elan 9000 (Perkin Elmer, США).

Все эксперименты выполняли в трех биологических и трех аналитических повторностях. Результаты обрабатывали с помощью компьютерных программ Microsoft Excel и представляли в виде средних арифметических со стандартным отклонением. Статистическую значимость различий между контролем и опытом оценивали по t-критерию Стьюдента [12]. Различия считали статистически значимыми при p > 0,90.

Для интерпретации результатов по количеству поглощенных токсичных элементов был рассчитан коэффициент биологического поглощения (КБП),

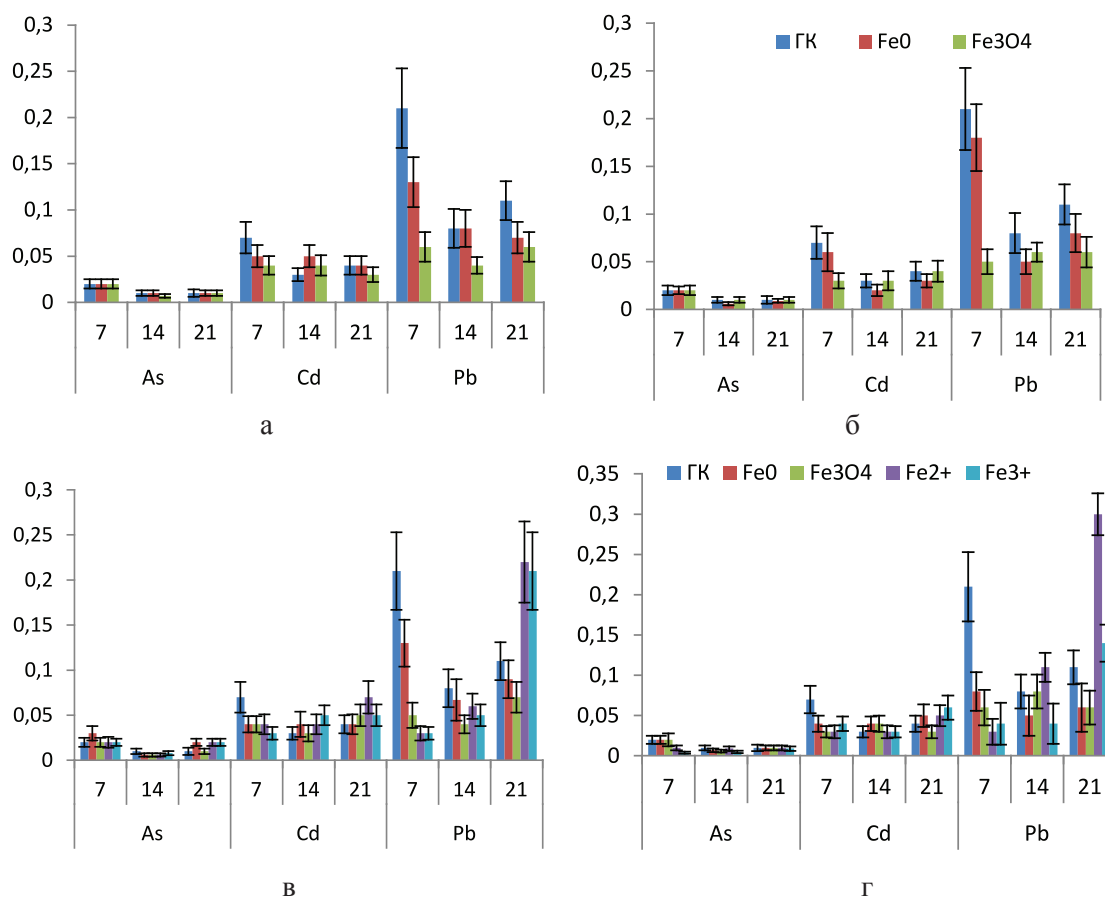
который находили как отношение количества металлов в побегах к их количеству в гуминовой кислоте. Выделенные гуминовые кислоты изначально содержат железо (719 ± 108 мкг/г) и небольшие количества кадмия ($0,007 \pm 0,0014$ мкг/г), свинца ($0,72 \pm 0,087$ мкг/г) и мышьяка ($0,23 \pm 0,027$ мкг/г).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ данных по количеству поглощенных токсичных элементов растениями вида *Triticum vulgare* Vill показал, что в течение времени в зависимости от количества внесенного железа и его формы происхо-

дит изменение содержания свинца, кадмия и мышьяка в надземной части растения.

Достоверно установлено, что по сравнению с контролем содержание свинца к 7 дню снижается под воздействием наночастиц железа Fe^0 до 61% ($C(\text{Fe}^0) = 1 \cdot 10^{-4}$ г/л) $p > 0,99$. Снижение количества свинца до 76% при доверительной вероятности 0,99 наблюдается в опыте с добавлением 0,001 г/л железа в виде наночастиц магнетита (КБП = $0,05 \pm 0,002$). Введение ионных форм железа снижает содержание свинца от 61% ($1 \cdot 10^{-4}$ г/л Fe^{3+}) до 85% (при 0,001 г/л Fe^{2+}) при $p > 0,99$ (рисунок).



Содержание мышьяка, кадмия и свинца (мкг/г) в надземной части сухого растения *Triticum vulgare* Vill на 7, 14 и 21 сутки в зависимости от различного количества внесенных форм железа (г/л):
а – 0,1; б – 0,01; в – 0,001; г – 0,0001

К 14 дню разница в количестве поглощенного свинца между растениями во всех опытных образцах уменьшается. Так, наименьшее содержание свинца при доверительной вероятности 0,91 наблюдается к 14 дню при концентрации наночастиц магнетита $1 \cdot 10^{-3}$ г/л ($0,04 \pm 0,01$ мкг/г), КБП при этом составляет $0,06 \pm 0,002$, что на 50% ниже, чем в контроле. Образцы растений, выращенных при добавле-

нии наноформы железа $C(\text{Fe}^0) = 1 \cdot 10^{-4}$ г/л, содержат свинец в количестве $0,05 \pm 0,02$ мкг/г сухого растения, что значительно ниже, чем в контроле ($0,08 \pm 0,02$ мкг/г), однако доверительная вероятность данного опыта составляет всего 77% ($p > 0,77$). Тем не менее снижение содержания свинца скорее всего, связано с большей проникающей способностью наноформ железа.

Очень часто сельскохозяйственные культуры высаживают на обедненных питательными веществами почвах с достаточно высоким уровнем загрязнения. Поэтому 21 день эксперимента, характеризующийся недостатком питательных элементов, имитирует реальные неблагоприятные условия.

Так, в условиях нехватки питательных элементов на 21 день добавление ионных форм железа приводит к увеличению количества свинца в 2 (при концентрации Fe^{2+} и Fe^{3+} 0,001 г/л) – 2,7 раза ($1 \cdot 10^{-4}$ г/л Fe^{2+}) по сравнению с контролем ($p > 0,95$). При этом в опытных образцах с добавлением наночастиц железа содержание свинца продолжает снижаться до 45% ($1 \cdot 10^{-4}$ г/л Fe^0 ($p > 0,95$) и Fe_3O_4 ($p > 0,94$)). Этот факт можно объяснить, тем, что растения поглощают железо в виде Fe^{2+} и Fe^{3+} . Легкая доступность этих элементов, приводит к изменению морфологии корней, ингибированию роста корневых волосков, что способствует в условиях отсутствия нужного элемента, поглощению других элементов [4].

В течение времени в растениях *Triticum vulgare Vill* происходит изменение содержания кадмия при добавлении различных форм железа. К 7 дню содержание кадмия при добавлении всех форм железа приводит к снижению этого элемента в растениях. На 14 день содержание кадмия под действием наночастиц и ионных форм железа находится примерно на одном уровне с контрольным опытом.

К 21 дню добавление ионных форм железа приводит к увеличению содержания кадмия в 1,75 раза при $\text{C}(\text{Fe}^{2+}) = 0,001$ г/л ($0,07 \pm 0,018$ мкг/г сухого растения, $p > 0,85$) и 1,5 раза при $\text{C}(\text{Fe}^{3+}) = 0,0001$ г/л ($0,06 \pm 0,015$ мкг/г сухого растения при $p > 0,73$) по сравнению с содержанием кадмия в контрольных образцах ($0,04 \pm 0,01$ мкг/г). Скорее всего, избыток возникает вследствие антагонистических взаимодействий с железом и в условиях нехватки питательных элементов. Зато содержание кадмия к 21 дню под действием наночастиц железа становится ниже на 25% при доверительной вероятности в 58 и 56% при $\text{C}(\text{Fe}^0) = 0,01$ г/л и $\text{C}(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-4}$ г/л соответственно, по сравнению с контролем. Таким образом, небольшой процент доверительной вероятности полученных данных не позволяет достоверно установить влияние различных форм железа и их концентраций на поглощение ионов кадмия растениями *Triticum vulgare Vill*.

Мышь является высокоопасным химическим элементом и способен оказывать токсическое действие на растения, животных и человека. Анализ данных показывает,

что на 7 день количество мышьяка в побегах максимально во всех образцах и колеблется от 0,03 до 0,004 мкг/г сухого растения. К 14 происходит снижение до 0,01 мкг/г во всех исследуемых образцах. В условиях нехватки питательных элементов на 21 день происходит увеличение содержания мышьяка в два раза по сравнению с контролем под действием всех форм железа ($p > 0,92$) за исключением действия магнетита (0,001 г/л), при котором уровень мышьяка находится на одном уровне с контролем и составляет $0,01 \pm 0,003$ мкг/г.

Таким образом, растение *Triticum vulgare Vill* чувствительно к изменению содержания в среде железа и реагирует на это изменением состава токсичных элементов. Проникновение железа зависит от его концентрации и формы, что и определяет доступ в корневую систему растения. Избыток токсичных элементов может возникнуть вследствие синергетических, антагонистических взаимодействий с железом и в условиях нехватки питательных элементов. При добавлении различных концентраций железа и его форм происходит снижение содержания свинца, кадмия; количество мышьяка практически не меняется.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на проведение научно-исследовательских работ (шифр заявки № 342).

Список литературы

1. Виноградов Д. Использование нанокристаллического металла железа для предпосевной обработки семян рапса / Д. Виноградов, П. Балабко // Главн. агроном. – 2011. – № 2. – С. 31–33.
2. Влияние высокодисперсных частиц различной природы на ранние стадии онтогенеза растений рапса (*Brassica napus*) / А.А. Гусев [и др.] // Науковедение. – Институт Государственного управления, права и инновационных технологий (ИГУПИТ) – 2013. – № 5. – С. 1–17.
3. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: ИПК Изд-во стандартов, 2004. – 56 с.
4. Ермакова, И.П. Физиология растений. – М.: АКАДЕМА, 2005. – С. 408–410.
5. Кабата-Пендиас А. Микроэлементы в почвах и растениях: пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 439 с.
6. Кондакова К.С. Влияние ионов, нано- и микрочастиц железа на люминесценцию и рост рекомбинантного штамма *Escherichia coli* с клонированным lux-опероном *Photobacterium leiognathi* в тесте острой и хронической токсичности / К.С. Кондакова, Т.Д. Дерябина // Нанотехника. – 2012. – № 4. – С. 47–52.
7. Кудрявцева Е.А. Влияние различных форм железа на прорастание семян *Triticum aestivum L.* / Е.А. Кудрявцева, Л.В. Анилова, С.Н. Кузьмин, М.В. Шарьгина // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2013. – № 6 (155). – С. 46–48.
8. Манская С.М. Геохимия органического вещества / С.М. Манская, Т.В. Дроздова. – М.: Наука, 1964. – 314 с.

9. Московкина Л.И. Детоксикация загрязненных мышьяком почв природными сорбентами, их смесями и модификациями: автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук: 06.01.02 / Московкина Людмила Игоревна. – М., 2012. – С. 24.
10. Орлов Д.С. Практикум по химии гумуса / Д.С. Орлов, Л. А. Гришина. – М.: Изд-во МГУ, 1981. – 272 с.
11. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот: дис. ... д-ра хим. наук. – М. 2000. – 359 с.
12. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Вышэйш. Школа, 1973. – 320 с.
13. Рябинина З.Н. Растительный покров степей Южного Урала (Оренбургская область) / З.Н. Рябинина. – Оренбург: Издательство ОГПУ, 2003. – 224 с. ISBN 5-85859-182-5.
14. Серегина И.И. Возможность применения регуляторов роста для снижения негативного действия кадмия на рост, развитие и продуктивность яровой пшеницы // Агротехника. – 2004. – № 1. – С. 71–74.
15. Чурсина, Е.В. Действие цинка, кадмия и свинца на продуктивность различных сортов яровой пшеницы в зависимости от уровня азотного питания при применении регулятора роста: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.04. – М., 2012. – С. 28.
6. Kondakova K.S., Deryabina T.D. *Nanotekhnika*, 2012, no. 4, pp. 47–52.
7. Kudryavtseva E.A., Anilova L.V., Kuzmin S.N., Sharygina M.V. *Bulletin of the Orenburg State University*, 2013, Vol. 6, no 155, pp. 46–48.
8. Manskaya S.M., Drozdov T.V. *Geochemistry of organic matter*. Moscow, Nauka, 1964. – 314 p.
9. Moskovkina L.I. *Detoxification of arsenic-contaminated soil by natural sorbents, blends and modifications thereof*: author. diss. ... Candidate. of agricultural sciences: 06.01.02. Moscow, 2012. pp. 24.
10. Orlov D.S. and Grishina L.A. *Workshop on the chemistry of humus*. Moscow, MGU, 1981. 272 p.
11. Perminova I.V. *Analysis, classification and prediction of properties of humic acids*: diss. ... Dr. Chem. Sciences. Moscow, 2000, 359 p.
12. Rokitsky, P.F. *Biological statistics* / P.F. Rokitsky. – Minsk: Vysheishaya. School, 1973 320 p.
13. Riabinina Z.N. *Steppe vegetation cover of the Southern Urals (Orenburg region)*. – Orenburg: Publisher Troops, 2003 224 p.
14. SerEGINA I.I. *Agrochemicals*, 2004, no 1, pp. 7–74.
15. Chursina E.V. *Effect of zinc, cadmium and lead on the productivity of different varieties of spring wheat, depending on the level of nitrogen nutrition in the application of a growth regulator*: author. diss. ... Candidate. biol. Sciences: 06.01.04. Moscow, 2012 pp. 28.

References

1. Vinogradov D., Balabko P. *Chief Agronomist*, 2011, no. 2, pp. 31–33.
2. Gusev A.A., Akimova O.A., Krutyakov Yu.A., Klimov A.I., Denisov A.N., Kuznetsov D.V., Godymchuk A.Yu., Ihalainen E.S. *Naukovedenie*, 2013, no. 5, pp. 1–17, available at: <http://publ.naukovedenie.ru>.
3. GOST 12038-84. *Seeds crops. Methods for determination of germination*. Moscow, IEC Standards Publishing House, 2004. 56 p.
4. Ermakova I.P. *Plant Physiology*. Moscow, Academia, 2005, pp. 408–410.
5. Kabata-Pendias A., Pendias X. *Trace elements in soils and plants*. Moscow, 1989. 439 p.

Рецензенты:

Рябинина З.Н., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой ботаники и физиологии растений ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет», г. Оренбург;

Мирошников С.А., д.б.н., профессор, директор ГНУ ВНИИМС РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ, г. Оренбург.

Работа поступила в редакцию 26.11.2014.