

Д.С. Токашева*, М.К. Бейсекова, К.Е. Жанасова,
Ж.Б. Глеукулова, А.Ж. Акбасова, Р.Т. Омаров

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан
*Автор для корреспонденции: dana041193@mail.ru

Влияние различных концентраций молибдена, вольфрама и молибдена с вольфрамом на рост *Nicotiana Benthamiana*

Аннотация. Молибден играет важную роль в жизни растений, поскольку участвует в окислительно-восстановительных реакциях азотного и серного обмена, биосинтезе фитогормонов и детоксикации ксенобиотиков. Нехватка молибдена распространена у зернобобовых и определённых овощных культур, которые интенсивно орошаются либо растут на кислых или песчаных почвах.

Растительные клетки способны поглощать молибден лишь в форме оксианион молибдата. Даже если Мо доступен для клетки, он биологически неактивен до тех пор, пока не сформируется комплекс с образованием Мосо - кофактора молибдена. Мосо располагается в активном центре молибдоферментов, которые применяются как малые цепи переноса электронов и участвуют в метаболизме азота и серы, биосинтезе гормонов и детоксикации вредных соединений в растениях. Известно четыре молибдофермента высших растений: нитратредуктазы (НР), ксантиндегидрогеназы (КДГ), альдегидоксидазы (АО) и сульфит оксидазы (СО).

Антагонистом молибдена является вольфрам (Т), он вытесняет Мо из молибдоэнзимов, в результате молибденсодержащие ферменты становятся неактивными.

Молибден - жизненно важный микроэлемент, он необходим в минимальных количествах для хорошего роста и развития растений. С другой стороны, потребление большого количества Мо является токсичным, а его полное отсутствие летально для организма растений. Следовательно, поиск оптимальной концентрации молибдена для хорошего роста и развития растений играет важную роль в развитии сельского хозяйства. В качестве модельного растения использовался австралийский табак - *Nicotiana Benthamiana*, относящийся к семейству пасленовых (*Solanaceae*).

Данная исследовательская работа демонстрирует влияние молибдата натрия ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), вольфрамата натрия ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и молибдата с вольфрамом на всхожесть и длину проростков *Nicotiana Benthamiana*.

Ключевые слова: молибден, вольфрам, концентрация, всхожесть, *Nicotiana Benthamiana*.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-137-4-84-91

Введение

Молибден (Мо) - это переходный элемент, его степени окисления варьируются от нуля до VI. Самой распространенной формой, обнаруживаемой в почвах, является четвертая степень окисления. Как и множество металлов, требуемых для роста растений, молибден используется определенными ферментами растений для участия в реакциях окисления и восстановления. Сам по себе молибден биологически неактивен [1].

Мо является важным микроэлементом в жизни растений, клетки способны поглощать Мо из окружающей среды в форме оксианион молибдата (MoO_4^{2-}). Данная форма молибдена распространена в растворах с рН выше 4,2. Мо является птериновым-кофактором в активных центрах множества ферментов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях азотного и серного обмена, биосинтезе фитогормонов и детоксикации ксенобиотиков. Данный микроэлемент после связывания с органической частью молибдоптерина образует кофактор молибдена (Мосо) приобретая окислительно-восстановительные свойства. Мосо располагается в

активном центре важных молибдоферментов, которые используются как малые цепи переноса электронов и участвуют в метаболизме азота и серы, биосинтезе гормонов и детоксикации вредных соединений в растениях [2].

Таким образом, для активации Мо необходима координация с пираноптериним, так образуется простетическая группа, названная кофактором молибдена (Мосо). На данный момент известно более 50 молибдоферментов. Большая часть из них обнаружена у бактерий, при этом у эукариот идентифицировано только семь. При условии, что Мо доступен для клетки, он биологически неактивен, пока не сформируется комплекс с образованием Мосо. Встраивание Мо в остов Мосо осуществляется в цитозоле. После поглощения клеткой молибдата, для того чтобы он стал активным, он координируется уникальным каркасом - металлсодержащим птериним (МРТ). Благодаря координации Мо с помощью МРТ формируется Мосо. Кофактор молибдена (Мосо) образует активный центр всех молибдоферментов у эукариот. У высших растений Мосо входит в состав апопротеинов четырех ферментов: нитратредуктазы, ксантиндегидрогеназы, альдегидоксидазы и сульфит оксидазы. Растительные молибдоэнзимы являются главными ферментами в ассимиляции нитратов, метаболизме пуринов, биосинтезе гормонов и, возможно, в детоксикации сульфитов. Они принимают участие в процессах адаптации к стрессу [3].

Как было выше упомянуто, молибдоэнзимы являются важной составляющей глобальных циклов углерода, азота и серы. Мо является микроэлементом, *живым организмом* он необходим в малых количествах. Однако потребление большого количества Мо будет токсичным для растений, а его отсутствие смертельно для организма растений [4].

На примере семян ячменя было доказано, что различные концентрации молибдена и вольфрама влияют на рост и всхожесть семян, высота листьев и длина корней были больше у растений, выращенных на 0,1 мМ концентрации молибдена. Ячмень, выращенный в растворах, содержащих вольфрам, был намного короче по высоте листьев и длине корней [5].

Существует тонкая грань между дефицитом, достаточностью и токсичностью Мо. Чаще всего нехватка Мо возникает у зернобобовых и определённых овощных культур, которые интенсивно орошаются либо растут на кислых или песчаных почвах [6]. Растения могут накапливать молибден. Избыток данного микроэлемента в растениях вызывает болезни у людей и животных. Симптомы интоксикации молибденом проявляются при концентрации более 20 мг/кг сухого вещества. Поэтому следует контролировать концентрации молибдена в растениеводстве [7].

Антагонистом молибдена является вольфрам (Т), потому как он вытесняет Мо из молибдоэнзимов, в результате молибденсодержащие ферменты становятся неактивными [8].

В данной экспериментальной работе исследовано влияние различных концентраций молибдена на рост растений *Nicotiana Benthamiana*. Мо представлен в виде молибдата ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), а его антагонист в виде вольфрамата ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Материалы и методы исследования

Были приготовлены растворы W ($\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Мо ($\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), W+Мо ($\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) в концентрациях 0,1 мМ, 0,5 мМ, 1 мМ, 0,05 и 0,025 мМ. В 150 мл каждого раствора добавили 1,05 г агара для получения 0,7% среды в целях дальнейшего выращивания *Nicotiana Benthamiana*, для дальнейшего переноса на гидропонную установку, контрольным раствором являлась дистиллированная вода, смешанная с агаром в тех же концентрациях. Приготовление 0,7% агара осуществлялось путем добавления 1,05 г агара марки PanReak AppliChem в ранее упомянутые растворы и нагревания на печи в течение четырех-пяти минут для полного растворения агара в вышеупомянутых растворах металлов.

Стерильные односторонние чашки Петри марки Артаса были наполнены приготовленной средой и оставлены в боксе при воздействии ультрафиолетового излучения до полного застывания среды во избежание контаминации. Застывший агар был поделен на две равные части, одна из которых удалялась. На поверхность среза поместили по шесть семян австралийского табака. Данные чашки Петри герметизировали лабораторной лентой Parafilm M и помещали в специализированно оборудованную комнату- Growthroom в вертикальном положении на 10 дней. Для растений были созданы оптимальные условия выращивания: имитация шестнадцатичасового дня и восьмичасовой ночи осуществлялась с помощью светодиодных ламп марки Klaus спектром 6400 К, влажность воздуха составляла 78 %, а температура воздуха - 28 °С.

Результаты и обсуждение

Спустя 10 дней был проведен сравнительный анализ высоты проростков. Все концентрации металлов, выращенные на чашках Петри с 0,7 % агаром, сравнивались с контролем и между собой.

Саженцы, выращенные на агаре с концентрациями Мо 0,5 и 1 мМ, были минимальных размеров 3 мм. 0,1 мМ концентрация также угнетала рост проростков в сравнении с контролем.

С другой стороны, проростки, выращенные в концентрации Мо 0,1 мМ, были на 7 мм выше саженцев, выращенных в концентрации 0,5 и 1 Мм (рис.1).

Растения, выращенные в концентрациях W 0,5 и 1 мМ, были наименьших размеров - 2 мм. Задержку роста оказала и 0,1 Мм концентрация. В сравнении с контролем проростки, выращенные на 0,1 Мм концентрации, были на 11-12 мм короче контроля (рис. 2).

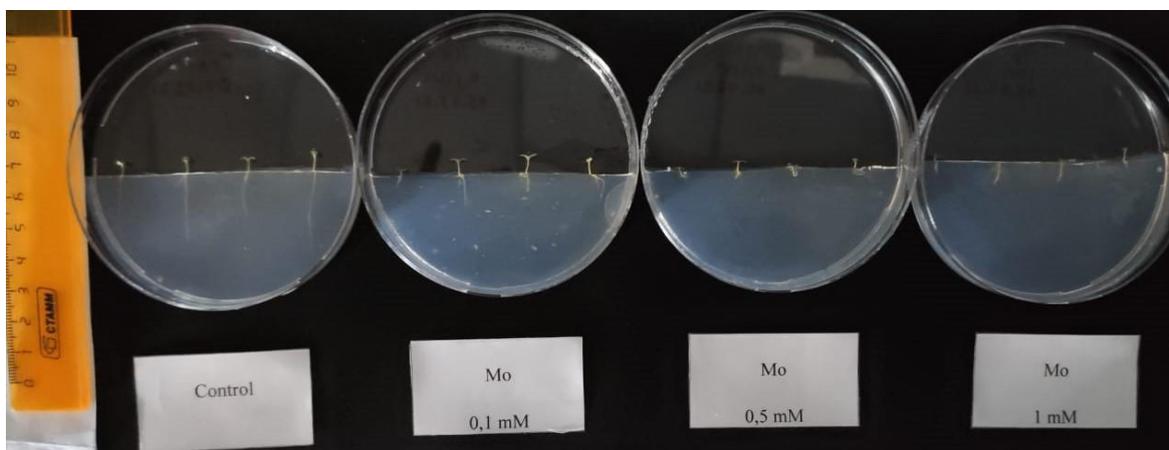


Рисунок 1. Проростки *N. Benthamiana*, выращенные на 0,1, 0,5 и 1 Мм концентрациях Мо

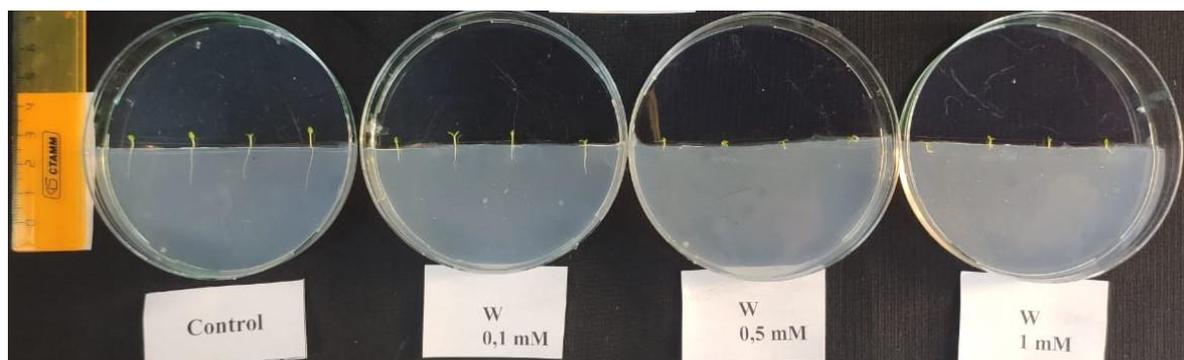


Рисунок 2. Ростки, выращенные на 0,1, 0,5 и 1 Мм концентрациях W

Саженьцы, выращенные на концентрациях Мо + W 0,5 и 1 мМ, были минимальных размеров - 3 мм. Ростки, выращенные на 0,1 мМ концентрации, были на 6 мм выше проростков, выращенных на 0,5 и 1 мМ концентрациях, но ниже контрольных растений на 10 мм (рис. 3).

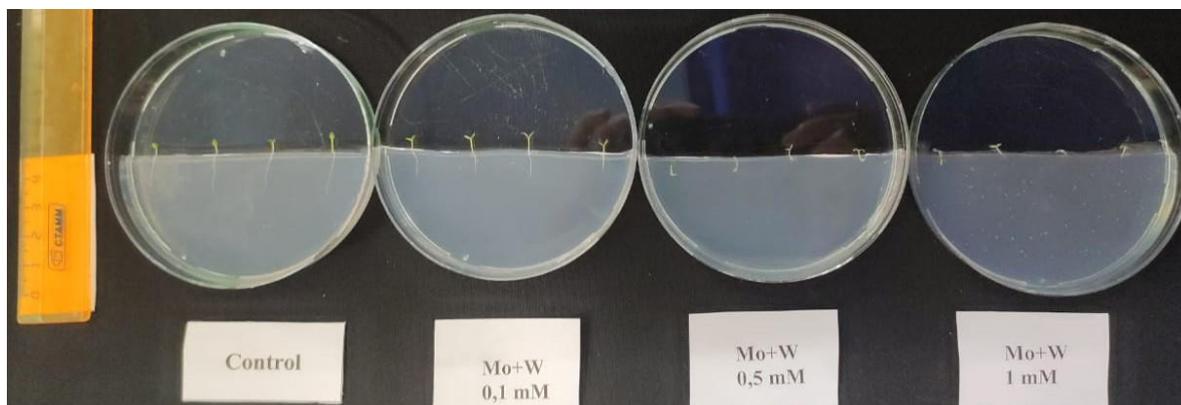


Рисунок 3. Растения, выращенные на 0,1, 0,5 и 1 мМ концентрациях Мо+ W

Концентрации вольфрама и вольфрама с молибденом 0,05 и 0,025 мМ оказывала угнетающее воздействие на проростки, длина проростков вольфрама 8 мм и Мо+ W - 9 мм.

Хотя данные концентрации задерживали рост проростков в сравнении с контролем, растения, выращенные на данных концентрациях, длиннее проростков, выращенных на концентрациях 0,5 и 0,1 мМ на 7 мм (рис. 4,5).

Концентрация молибдена 0,05 мМ оказалась оптимальной для выращивания растений, поскольку длина проростков составила 2,4 см, что на 5 мм больше контроля, который составил 1,9 см (рис. 4).



Рисунок 4. Растения, выращенные на 0,05 мМ концентрациях Мо, W, W+Mo

Концентрация молибдена 0,025 мМ снижала рост саженцев на 4 мм в сравнении с контролем.

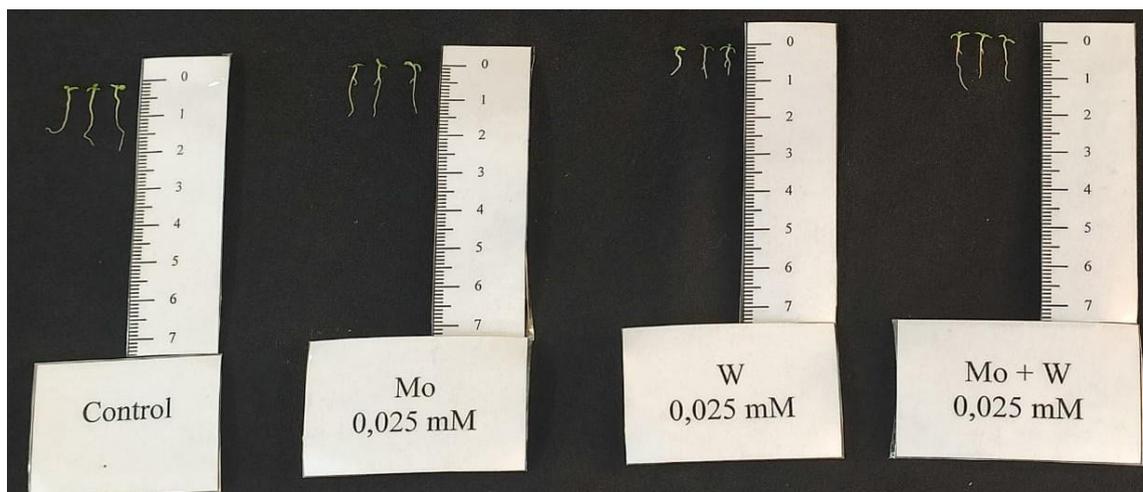


Рисунок 5. Проростки, выращенные на 0,025 Мм концентрациях Мо, W, W+Мо

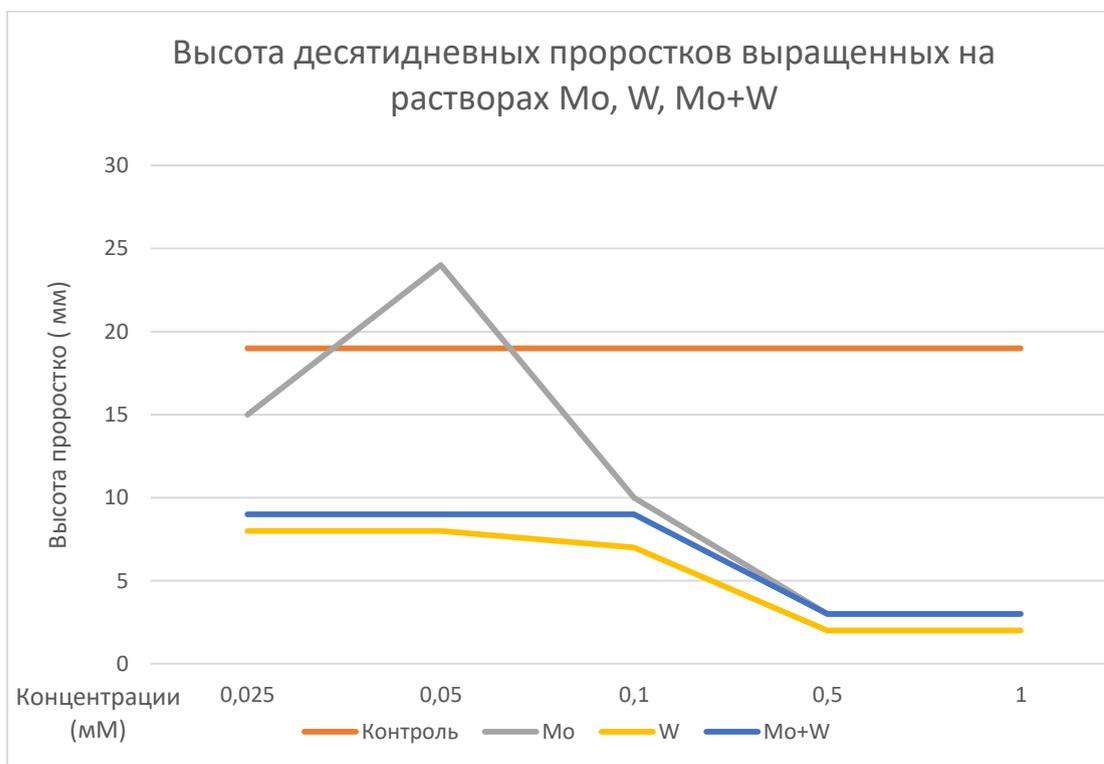


Диаграмма 1. Высота десятидневных растений, выращенных на агаре с добавлением различных концентраций металлов

Заключение

Таким образом, концентрации 0,5 и 1 мМ металлов всех приготовленных растворов оказывает максимально угнетающее воздействие на рост проростков *N. Benthiana*. Саженьцы, выращенные в 0,1 мМ концентрации, были выше, чем проростки, выращенные на 0,5 и 1 мМ концентрациях, но в сравнении с контролем они также угнетали рост проростков. Концентрации W и Мо+W 0,05 и 0,025 мМ задерживали рост проростков на 10-11 мм. Концентрация молибдена 0,05 мМ оказалась наилучшей для выращивания растений *N. Benthiana*, потому как активировала рост саженцев в сравнении с контролем на 5 мм (Диаграмма 1).

Финансирование. Данная исследовательская работа финансировалась Научным комитетом Министерства образования и науки Республики Казахстан (грант № AP09058098).

Список литературы

1. Kaiser B.N., Gridley K.L., Brady J.N., Phillips T., Tyerman S.D. The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production // *Annals of Botany*. - 2005. - Vol. 96. - P. 745-754.
2. Tejada-Jime'nez M., Chamizo-Ampudia A., Galva'n A., Ferna'ndez E., Llamas A. Molybdenum metabolism in plants // *Metallomics*. - 2013. - Vol. 5. - P. 1191-1203.
3. Zdunek-Zastocka E. and Lips H.S. Plant molybdoenzymes and their response to stress // *Acta Physiologiae Plantarum*. - 2003. - Vol. 25. - №4. - P. 437-452.
4. Mendel R.R. and Kruse T. Cell biology of molybdenum in plants and humans // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* - 2003. - Vol. 1823. - №9. - P. 1568-1579.
5. Batyrshina Zh., T. M. Yergaliyeva T. M., Nurbekova Zh., Moldakimova N. A., Masalimova Zh. K., Sagic M., Omarova R. T. Differential influence of molybdenum and tungsten on the growth of barley seedlings and the activity of aldehyde oxidase under salinity // *Journal of Plant Physiology* - 2018. - Vol. 228 - P. 189-196.
6. Manuel T.J., Alejandro Ch.A., Angel L., Aurora G., Emilio F. Roles of molybdenum in plants and improvement of its acquisition and use efficiency // *Plant Micronutrient Use Efficiency* - 2018. - P. 137-159.
7. Kostova1 D., Kanazirska V., Kamburova1 M. A comparative analysis of different vegetable crops for content of manganese and molybdenum // *Agronomy Research* - 2008. - Vol. 6. - №2. - P. 477-488.
8. Шерхов З.Х., Курданов Х.А., Шеожев М. А. Структурные изменения в легких под влиянием аэрозолей молибдена, вольфрама и их комплекса в условиях модельного эксперимента // *Экология человека* - 2009. - Т.2. - С.13-16.

Д.С. Тоқашева, М.К. Бейсекова, К.Е. Жанасова, Ж.Б. Тлеукулова,
А.Ж. Ақбасова, Р.Т. Омаров

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Nicotiana Benthamiana өсуіне молибден, вольфрам және вольфраммен молибденнің әртүрлі мөлшерінің әсері

Аңдатпа. Молибден өсімдіктердің өмірінде маңызды рөл атқарады, себебі азот пен күкірт алмасудың тотығу-тотықсыздану реакцияларына, фитогормондардың биосинтезіне және ксенобиотиктерді уытсыздандыруға қатысады. Молибденнің жетіспеушілігі үстін-үстіне суарылатын немесе қышқыл, құмайт топырақта өсетін дәнді-бұршақты және жекелеген көкөніс дақылдарында кездеседі.

Өсімдіктер жасушалары молибденді молибдат оксианион түрінде сіңіреді. Мо жасуша үшін қолжетімді болса да, Мосо - молибден кофакторы түзілумен кешен қалыптасқанға дейін ол биологиялық тұрғыда белсенді болмайды. Мосо электрондарды тасымалдаудың кіші тізбегі ретінде қолданылатын, азот пен күкірттің метаболизміне, гормондардың биосинтезіне және өсімдіктердегі зиянды қосылыстарды уытсыздандыруға қатысатын молибдоферменттердің белсенді орталығында орналасады. Жоғарғы өсімдіктердің төрт молибдоферменті белгілі: нитратредуктаза (НР), ксантиндегидрогеназа (КДГ), альдегидоксидаза (АО) және сульфитоксидаза (СО).

Вольфрам (W) молибденнің антагонисі болып табылады, ол мобдоэнзимдерден Мо-ны

ығыстырады, нәтижесінде құрамында молибден бар ферменттер белсенді болмайды.

Молибден өмірлік маңызы бар микроэлемент, ол өсімдіктердің жақсы өсуі мен дамуы үшін ең аз мөлшерде қажет. Екінші жағынан, Мо-ның көп мөлшерін тұтыну уытты болып табылады, ал оның мүлдем болмауы өсімдіктер ағзалары үшін өліммен тең. Сондықтан, өсімдіктердің жақсы өсуі мен дамуы үшін молибденнің ең тиімді мөлшерін іздеу ауыл шаруашылығының дамуында маңызды рөл атқарады. Үлгілік өсімдік ретінде алқа тұқымдастарға (Solanaceae) жататын австралия темекісі - *Nicotiana Benthamiana* қолданылды.

Осы зерттеу жұмысында молибдат натрия ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), вольфрамат натрия ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) және вольфрамат пен молибдаттың *Nicotiana Benthamiana* өңгіштігі мен өскіндерінің ұзындығына әсері көрсетілді.

Түйін сөздер: молибден, вольфрам, шоғырлану, өңгіштік, *Nicotiana Benthamiana*.

**D.S. Tokasheva, M.K. Beisekova, K.E. Zhanassova, Zh.B. Tleukulova,
A.Zh. Akbasova, R.T. Omarov**

L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Influence of various molybdenum, tungsten, and molybdenum with tungsten concentrations to the growth of *Nicotiana Benthamiana*

Abstract. Molybdenum is a key microelement in plant functioning, as it takes part in oxidation-reduction reaction of nitrogen and sulphuric exchange, plant hormone biosynthesis, and xenobiotic detoxication. Molybdenum deficiency is widely spread among pulses and some vegetable crops, which are intensively irrigated, or which grow in acid or sandy soils. Plant cells can absorb molybdenum in the form of molybdate oxyanion. Even though molybdenum is available for a cell, it is biologically inactive element until there is a formed complex of molybdenum co-factor (Moco). Moco is situated in the active center of molybdenum ferments, which are used as short bonds of electron passage and take part in nitrogen and sulfur metabolism, hormone biosynthesis, and plant harmful bond detoxification. There are known four molybdenum ferments of higher plants such as nitrate reductase (NR), xanthine dehydrogenase (XDH), aldehyde oxidase (AO), and sulfite oxidase (SO). Tungsten (T) is molybdenum antagonist. It pushes molybdenum out of molybdoenzymes, as a result molybdenum-containing enzymes become inactive.

Molybdenum is a vital element which is in minimal qualities required for plant growth and development. On the other hand, huge amount of Molybdenum is toxic, and its complete absence is lethal for the plant organism. As a result, the search for the perfect molybdenum concentration for the growth and development plays an important role in agriculture. *Nicotiana Benthamiana*, or Australian tobacco was used as a model plant, it is nightshade family (Solanaceae).

The article presents sodium molybdate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodium wolframate ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), and molybdate with wolframate influence to germinating capacity and length of *Nicotiana Benthamiana* plantlets.

Key words: molybdenum, tungsten, concentration, germinating capacity, *Nicotiana Benthamiana*.

References

1. Kaiser B.N., Gridley K.L., Brady J.N., Phillips T., Tyerman S.D. The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production, *An Bot*, 96, 745-754 (2005). DOI: 10.1093/aob/mci226.
2. Tejada-Jime'nez M., Chamizo-Ampudia A., Galva'n A., Ferna'ndez E., Llamas A. Molybdenum metabolism in plants, *Metallomics*, 5,1191-1203(2013). DOI:

<https://doi.org/10.1039/C3MT00078H>.

3. Zdunek-Zastocka E. and Lips H.S. Plant molybdoenzymes and their response to stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 25(4), 437- 452 (2003).

4. Mendel R.R. and Kruse T. Cell biology of molybdenum in plants and humans, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1823(9), 1568-1579 (2003). DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.02.007.

5. Batyrshina Zh., T.M. Yergaliyeva T.M., Nurbekova Zh., Moldakimova N.A., Masalimova Zh.K., Sagic M., Omarova R.T. Differential influence of molybdenum and tungsten on the growth of barley seedlings and the activity of aldehyde oxidase under salinity, *J Plant Physiol*, 228, 189-196 (2018). DOI: 10.1016/j.jplph.2018.06.009.

6. Manuel T.J., Alejandro Ch.A., Angel L., Aurora G., Emilio F. Roles of molybdenum in plants and improvement of its acquisition and use efficiency, *Plant Micro Use Eff*, 137-159 (2018).

7. Kostova D., Kanazirska V., Kamburova M.A comparative analysis of different vegetable crops for content of manganese and molybdenum, *Agr Res*, 6(2), 477-488(2008).

8. Sherhov Z.H., Kurdanov H.A., Sheozhev M.A. Strukturnye izmeneniya v legkih pod vliyaniem aerozolej molibdena, vol'frama i ih kompleksa v usloviyah model'nogo eksperimenta, *Ekologiya i zhizn'*, 2,13-16 (2009).

Сведения об авторах:

Токашева Д.С. – докторант, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Кажымукана, 13, Нур-Султан, Казахстан. E-mail: dana041193@mail.ru.

Бейсекова М.К. – докторант, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Кажымукана, 13, Нур-Султан, Казахстан. E-mail: mk.beisekova@gmail.com.

Жанасова К.Е. – докторант, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана, 13, Нур-Султан, Казахстан. E-mail: zhanassova.kz@gmail.com.

Тлеукулова Ж.Б. – докторант, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Кажымукана, 13, Нур-Султан, Казахстан. E-mail: zhanerke.birzhan@gmail.com.

Акбасова А.Ж. – PhD, и.о. доцента, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Кажымукана, 13, Нур-Султан. E-mail: aj.alua@yahoo.com.

Омаров Р.Т. – PhD, профессор, заведующий кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Кажымукана, 13, Нур-Султан, Казахстан. E-mail: romarov@gmail.com.

Токасьева Д.С. – Ph.D. student, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhymukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: dana041193@mail.ru.

Бейсекова М.К. – Ph.D. student, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhymukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: mk.beisekova@gmail.com.

Жанасова К.Е. – Ph.D. student, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhymukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: zhanassova.kz@gmail.com.

Тлеукулова Ж.Б. – Ph.D. student, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhymukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan. E-mail: zhanerke.birzhan@gmail.com.

Акбасова А.Ж. – Ph.D., Associate Professor, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhymukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan, E-mail: aj.alua@yahoo.com.

Омаров Р.Т. – Head of the Department, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhymukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan, E-mail: romarov@gmail.com.