

Литература

- Дроздов С.Н., Курец В.К., Будыкина Н.П., Балагурова Н.И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. Л.: Колос, 1976. С. 222-228.
- Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Харькина Т.Г., Шерудило Е.Г. Влияние кратковременного снижения ночной температуры на рост и холодостойкость растений огурца // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 4. С. 511-515.
- Levitt J. Responses of Plants to Environmental Stresses: Chilling, Freezing and High Temperature Stresse., Academic Press, New York, 1980. 497 pp
- López-Juez E., Nagatani A., Tomizawa K-I., Deak M., Kern R., Kendrick R.E., Furuya M. The cucumber long hypocotyle mutant lack a light-stable PHYB-like phytochrome. *The Plant Cell*. 1992 V. 4. P. 241-251.
- Markovskaya E.F., Sherudilo E.G., Sysoeva M.I. Influence of long-term and short-term temperature drops on acclimation and de-acclimation in cucumber cold resistance. *Acta Horticulturae*. 2003. V. 618. P. 233-236.
- Short T.M. Overexpression of Arabidopsis phytochrome B inhibits phytochrome A function in the presence of sucrose. *Plant Physiology*. 1999. V. 119. P. 1497-1505.
- Sysoeva M.I., Markovskaya E.F., Kharkina T.G., Sherudilo E.G. Temperature drop, dry matter accumulation and cold resistance of young cucumber plants. *Plant Growth Regulation* 1999. V. 28. P. 89-94.

### УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА РОАСЕАЕ К КАДМИЮ

Титов А.Ф., Казнина Н.М., Шалыго Н.В.\*, Радюк М.С.\*, Будакова Е.А.\*, Лайдинен Г.Ф., Таланова В.В., Таланов А.В., Венжик Ю.В., Батова Ю.В.

Петрозаводск, Институт биологии Карельского научного центра РАН  
\* Минск, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

Кадмий является одним из наиболее токсичных загрязнителей окружающей среды с сильно выраженным отрицательным действием на все живые организмы, включая растения. Накапливаясь в органах и тканях, кадмий негативно влияет на многие стороны метаболизма, а также на продуктивность растений (Титов и др., 2007). В частности, под воздействием высоких концентраций этого металла у растений замедляется рост и развитие, нарушаются водный и минеральный обмены, изменяется интенсивность фотосинтеза и дыхания (Barceló, Poschenrieder, 1990; Prasad, 1995; Sanità di Toppi, Gabrielli, 1999; Серегин, Иванов, 2001; Vassilev, 2002 и др.). Вместе с тем, благодаря наличию механизмов устойчивости, действующих на разных уровнях организации, некоторые виды растений, в том числе и из семейства Роасеае, способны расти и развиваться без серьезных нарушений физиологических процессов в присутствии довольно высоких концентраций кадмия в окружающей среде.

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы явилось изучение адаптивного потенциала некоторых представителей семейства Роасеае и механизмов их устойчивости к ионам кадмия.

Объектами исследования служили следующие виды семейства Роасеае: *Agrostis alba* L., *Bromopsis inermis* Leyss., *Elytrigia repens* L., *Phleum pratense* L., *Setaria viridis* (L.) Beauv., а также *Hordeum vulgare* L. (сортов Зазерский 85 и Гонар). Для изучения всхожести семян использовали растворы сульфата кадмия в концентрациях  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  и  $10^{-2}$  М. Вегетационные опыты проводили, используя песчаную культуру, при этом кадмий в концентрациях 20, 40, 80 и 160 мг/кг субстрата вносили одноразово при закладке опыта. О реакции растений на воздействие кадмия судили по изменению ряда показателей роста и развития, водного обмена, а также по состоянию фотосинтетического аппарата. Содержание хлорофиллов определяли спектрофотометрически. Интенсивность фотосинтеза и транспирации измеряли с помощью портативной системы НСМ-1000 (Walz, Германия), флуоресценцию хлорофилла – на флуориметре MINI-PAM (Walz, Германия). Общий пул тиолов (SH-содержащих соединений) оценивали по методике Крейссена с соавт. (Creissen et al., 1999). Количество окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона анализировали в листьях проростков ячменя при действии хлористого кадмия в концентрациях 20, 50 и 100 мг/дм<sup>3</sup> субстрата по методике, описанной Н.В. Шалыго с соавт. (2007). О содержании комплексов металла с фитохелатинами (ФХ) судили по отношению величины поглощения комплексов катионов Cd<sup>2+</sup> с GSH и ФХ при 308 нм (D<sub>308</sub>) к максимуму поглощения белков при 268 нм (D<sub>268</sub>) (Радюк и др., 2007).

Проведенные исследования показали, что кадмий в концентрациях  $10^{-5}$  и  $10^{-4}$  М не оказывает существенного влияния на энергию прорастания и всхожесть семян злаков или вызывает небольшой стимулирующий эффект (табл. 1). Повышение содержания металла в корнеобитаемой среде до  $10^{-3}$  М приводило к задержке начальных этапов прорастания у всех изученных видов и в дальнейшем к снижению всхожести семян на 40–80% (по отношению к контролю) в зависимости от вида растения. В присутствии кадмия в концентрации  $10^{-2}$  М семена не проросли.

Таблица 1

Влияние кадмия на энергию прорастания и всхожесть семян дикорастущих злаков

Вид	Контроль	Концентрация ионов кадмия, М			
		10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-2</sup>
Энергия прорастания, %					
<i>Agrostis alba</i>	36±0.8	57±0.5	18±3.0	0	0
<i>Bromopsis inermis</i>	25±4.5	51±3.5	63±2.5	0	0
<i>Elytrigia repens</i>	25±2,5	58±1,0	42±1,0	6±0,2	0
<i>Phleum pratense</i>	44±4,0	34±9,0	59±1,5	0	0
<i>Setaria viridis</i>	17±1,5	14±1,0	6±1,0	0	0
Всхожесть, %					
<i>Agrostis alba</i>	68±1,1	82±0,6	80±0,7	17±2,9	0
<i>Bromopsis inermis</i>	89±2,9	94±1,2	87±2,9	18±4,6	0
<i>Elytrigia repens</i>	67±2,9	70±0,5	68±0,5	37±8,7	0
<i>Phleum pratense</i>	94±0,1	90±1,2	96±1,2	31±4,0	0
<i>Setaria viridis</i>	85±1,7	94±1,2	91±0,6	52±1,2	0

Исследование влияния кадмия на рост и развитие растений семейства Poaceae выявило хорошо выраженную дозовую зависимость в отношении изученных показателей. При этом, в присутствии металла как у дикорастущих видов, так и у ячменя в большей степени снижалась (по сравнению с контролем) длина корня, в меньшей степени – высота побега (табл. 2). Кроме того, у растений отмечалось отставание в сроках наступления фазы и этапов органогенеза. Вместе с тем, проведенные опыты показали, что при однократном внесении кадмия в субстрат его негативное действие на указанные параметры роста и развития растений в процессе онтогенеза постепенно ослабевает.

Анализ структуры фотосинтетического аппарата (ФСА) злаков (на примере ячменя) выявил, что под действием металла в диапазоне концентраций от 20 до 80 мг/кг субстрата у растений уменьшаются площадь клеток мезофилла (на 5–10% по отношению к контролю в зависимости от концентрации) и размеры хлоропластов (на 8–15%). Вместе с тем, число хлоропластов на единицу площади клетки, наоборот, заметно возрастало (на 10–15%). Явно выраженных изменений в ультраструктуре хлоропластов обнаружено не было: количество гран и пластоглобул в хлоропласте, тилакоидов в гране, а также протяженность мембран тилакоидов стромы и гран в клетках опытных растений не отличались от контрольных. Лишь при увеличении концентрации металла до 160 мг/кг субстрата наблюдалось снижение числа хлоропластов в клетке (на 25 % по отношению к контролю) и уменьшение протяженности мембран гранальных тилакоидов (на 30%).

Таблица 2

Влияние кадмия на некоторые показатели роста дикорастущего (*Setaria viridis*) и культурного (*Hordeum vulgare*) злаков

Концентрация кадмия, мг/кг субстрата	Показатели роста, % к контролю			
	длина корня	высота побега	площадь листа	биомасса растения
<i>Setaria viridis</i>				
20	100	103	100	100
40	81	89	81	82
80	63*	66*	76*	62*
160	39*	52*	36*	42*
<i>Hordeum vulgare</i>				
20	100	92	97	103
40	96	89	90	94
80	21*	88	83	70*
160	11*	62*	42*	39*

\* Различия с контролем достоверны при P≤0.05

Достоверное уменьшение показателей, характеризующих состояние ФСА ячменя, также отмечалось лишь при действии кадмия в наибольшей из изученных концентраций. В частности, суммарное содержание хлорофиллов в листьях снижалось на 60% (по отношению к контролю), интенсивность фотосинтеза – на 70%. Помимо этого, обнаружено уменьшение таких параметров флуоресценции хлорофилла, как скорость электронного транспорта (на 25%) и квантовый выход фотохимического превращения световой энергии (на 10%), которые характеризуют активность фотосистемы II.

Кроме того, результаты проведенных исследований показали отсутствие заметного влияния кадмия на интенсивность транспирации и устьичную проводимость листьев растений, а также на оводненность тканей листа, что свидетельствует о способности злаков поддерживать в присутствии металла необходимый уровень водного обмена.

Одним из важнейших механизмов металлоустойчивости растений является детоксикация ионов тяжелых металлов в клетке путем связывания их с SH-группами некоторых низкомолекулярных пептидов и белков (Hall, 2002). В проведенных исследованиях у проростков ячменя при действии кадмия зарегистрировано увеличение общего количества SH-содержащих соединений. В частности, в варианте с использованием максимальной концентрации металла (100 мг/дм<sup>3</sup>) количество тиолов возрастало в 5 раз по сравнению с контролем. Помимо этого, обнаружено повышение (по сравнению с контролем) общего пула глутатиона (GSH+GSSG), причем количество GSH увеличивалось в большей степени, чем GSSG (табл. 3).

Таблица 3

Содержание (нмоль/г сырой массы) восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатионов, и их суммы (GSH+GSSG) в листьях растений ячменя в присутствии кадмия

Концентрация кадмия, мг/дм <sup>3</sup>	GSH	GSSG	GSH+GSSG
0	345 ± 12	42 ± 5	387 ± 14
100	538 ± 29	60 ± 4	598 ± 30

Известно, что глутатион является предшественником фитохелатинов – низкомолекулярных пептидов, содержащих большое количество SH-групп (Grill et al., 1985). Как показали наши эксперименты, по мере возрастания концентрации кадмия в корнеобитаемой среде отношение  $D_{308}/D_{268}$  увеличивалось от 0.4 у растений в контрольном варианте до 0.75 – в варианте, с использованием наибольшей концентрации кадмия, что указывает на активный синтез ФХ в клетках листьев ячменя.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о высокой устойчивости растений семейства Poaceae к кадмию, о чем свидетельствует хорошая всхожесть их семян, способность восстанавливать ростовые процессы в ходе онтогенеза, поддерживать необходимый уровень водного обмена, а также сохранять структурную целостность и функциональную активность ФСА в присутствии довольно высоких концентраций кадмия в корнеобитаемой среде. Подобная устойчивость растений обеспечивается активацией механизмов детоксикации металла, в частности, значительным увеличением количества SH-содержащих соединений за счет повышения содержания глутатиона и синтеза ФХ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Подпрограммы «Биоразнообразие» (Проект 3.5.1.).*

#### Литература

- Радюк М.С., Будакова Е.А., Шалыго Н.В. Влияние катионов  $Cd^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  на общий пул тиолов в зеленых листьях ячменя // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2007. № 3. С. 61–65.
- Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. № 4. С. 606–630.
- Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам // Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 172 с.
- Шалыго Н.В., Щербаков Р.А., Доманская И.Н., Радюк М.С. // Спектрофотометрический метод определения окисленного и восстановленного глутатиона в растениях // Физиология и биохимия культ. растений. 2007. Т. 39. № 3. С. 264–270.
- Barceló J., Poschenrieder C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review // J. Plant Nutr. 1990. V. 13. P. 1–37.
- Cobbett C.S. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification // Plant Physiol. 2000. V. 123. P. 825–832.
- Creissen G., Firmin J., Fryer M. et al. Elevated glutathione biosynthetic capacity in the chloroplasts of transgenic tobacco plants paradoxically causes increased oxidative stress // Plant Cell. 1999. V. 11. P. 1277–1292.
- Grill E., Winnacker E.L., Zenk M.H. Phytochelatin: The principal heavy-metal complexing peptides of higher plants // Science. 1985. V. 230. P. 674–676.
- Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 1–11.
- Prasad M.N.V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants // Environ. Exp. Bot. 1995. V. 35. P. 525–545.
- Sanità di Toppi L., Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants // Environ. Exp. Bot. 1999. V. 41. P. 105–130.
- Vassilev A. Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview // J. Central European Agriculture. 2002. V. 4. N 1. P. 65–74.