

УДК 581.1: 633.16: 546.48

## **ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ВОЗРАСТА**

**Н. М. Казнина, А. Ф. Титов, Г. Ф. Лайдинен, Ю. В. Батова**

*Институт биологии Карельского научного центра РАН*

Изучали влияние кадмия на ряд параметров роста (прирост корня и побега, площадь листовой пластинки), фотосинтетической активности (содержание фотосинтетических пигментов, квантовая эффективность фотосистемы II, скорость электронного транспорта, интенсивность фотосинтеза), а также водного режима (количество и размеры устьиц, ширина устьичной щели, интенсивность транспирации и устьичная проводимость) растений ячменя в зависимости от их возраста. Установлено, что кадмий в концентрации 100 мкМ задерживает рост корня 3-дневных проростков, подавляет их фотосинтетическую активность, нарушает водный режим, при этом торможение роста надземных органов не наблюдается. У 9-дневных растений в присутствии металла замедляется рост побега и уменьшаются размеры листа, тогда как фотосинтетические процессы и водный режим сохраняются на высоком уровне. Ингибирование роста корня при этом также не происходит. Высказаны предположения относительно возможных причин обнаруженных возрастных различий в ответной реакции растений ячменя на действие кадмия.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., кадмий, физиологические показатели, возраст растений.

### **N. M. Kaznina, A. F. Titov, G. F. Laidinen, Yu. V. Batova. CADMIUM EFFECT ON SOME PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF BARLEY PLANTS DEPENDING ON THEIR AGE**

The effect of cadmium on some parameters of growth (root and shoot increment, leaf area), photosynthetic activity (content of photosynthetic pigments, quantum efficiency of the photosystem II, electron transport rate, photosynthetic rate) and the water regime (number and size of stomata, stomatal aperture width, transpiration intensity, and stomatal conductance) in barley plants was studied in relation to plant age. Cadmium at a concentration of 100  $\mu\text{M}$  was found to inhibit root growth in 3-day-old plants, suppress their photosynthetic activity, and disturb the water regime, but no delays in the growth of above-ground parts are observed. In 9-day-old plants, stem growth in the presence of the metal is inhibited, and leaves are smaller, whereas photosynthetic processes and the water regime remain quite active. Neither is root growth inhibited in them. Conjectures have been made concerning potential causes of the age-related differences in the response of barley plants to cadmium.

Key words: *Hordeum vulgare* L., cadmium, physiological parameters, plant age.

## Введение

Кадмий является для растений одним из наиболее токсичных тяжелых металлов [Алексеев, 1987; Prasad, 1995; Heiss et al., 2003]. Возрастание его содержания в почве, связанное с хозяйственной деятельностью человека, сопровождается значительным увеличением количества токсичных ионов в растениях, что оказывает отрицательное воздействие на многие стороны их жизнедеятельности [Титов и др., 2007]. Не случайно исследованию влияния кадмия на растения посвящено довольно большое число работ [Мельничук, 1990; Sanità di Toppi, Gabrielli, 1999; Серегин, Иванов, 2001; Vassilev, 2002; Титов и др., 2007 и др.], анализ которых показывает, что степень ингибирования металлом отдельных физиологических показателей зависит не только от его концентрации в корнеобитаемой среде и продолжительности действия, но и от видовой (сортовой) специфики растения. Кроме того, ряд авторов указывает на наличие определенной зависимости в реакции растений на действие кадмия от их возраста, однако экспериментальных данных, подтверждающих это, крайне мало.

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования явилось изучение влияния кадмия на некоторые показатели роста, фотосинтетической активности листьев и водного режима растений ячменя в зависимости от их возраста.

## Материалы и методы

Объектом исследования служил яровой ячмень (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85. Растения выращивали в песке при температуре воздуха 20–22 °С, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. На 3-и и 9-е сут, после появления шильца соответственно первого или второго листа, растения переносили на питательный раствор Кнопа половинной концентрации (контрольный вариант). В опытном варианте к питательному раствору добавляли 100 мкМ кадмия в форме сульфата.

Воздействие кадмия на растения оценивали через 4 сут экспозиции по изменению (по отношению к контролю) ряда параметров роста (прирост корня и побега, площадь листовой пластинки первого или второго листа, сформированного за время экспозиции), фотосинтетической активности (содержание фотосинтетических пигментов, квантовая эффективность фотосистемы II, скорость электронного транспорта, интенсивность фотосинтеза), а также водного режима (количество и размеры устьиц, ширина устьичной щели, интенсивность транспирации и устьичная проводимость). Помимо

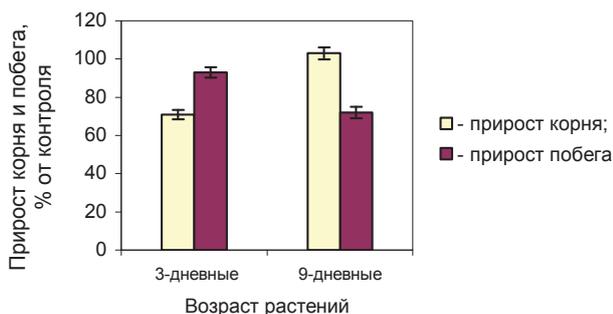
этого, был проведен химический анализ содержания кадмия в органах опытных растений.

Площадь листовой пластинки рассчитывали по формуле  $S = 0,66ld$ , где  $l$  – длина листа,  $d$  – ширина листа [Аникиев, Кутузов, 1961]. Содержание хлорофиллов ( $a$  и  $b$ ) и каротиноидов в листьях растений определяли спектрофотометрически, экстрагируя 80%-м ацетоном. Для расчета использовали формулы Вернона и Веттштейна [Шлык, 1971]. Измерение параметров флуоресценции хлорофилла – квантовую эффективность фотосистемы II (Fv/Fm) и относительную скорость транспорта электронов (ETR) – проводили с использованием флуориметра MINI-PAM (Walz, Германия). Интенсивность фотосинтеза, транспирации и устьичную проводимость оценивали с помощью установки для исследования CO<sub>2</sub>-газообмена и концентрации водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия). Подсчет числа устьиц на нижнем эпидермисе листа, измерение размеров замыкающих клеток и устьичной щели осуществляли по общепринятой методике [Практикум..., 1990] с использованием светового микроскопа Микмед 2 (ЛОМО, Россия) и окуляр-микрометра. Повторность в пределах одного варианта опыта составляла 15 растений. Содержание кадмия в корнях и листьях определяли в 3–5 аналитических повторностях методом инверсионной вольтамперометрии с использованием полярографа ABC-1.1 (Вольта, Россия). В таблицах представлены средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента.

## Результаты

Проведенное исследование показало, что при воздействии кадмия на 3-дневные растения ячменя в большей степени тормозится рост корня: его прирост в опытном варианте был почти на 30 % меньше, чем в контроле, тогда как прирост побега снижался только на 10 % (рис.). При внесении же металла в корнеобитаемую среду 9-дневных растений заметных различий в приросте корня между опытными и контрольными вариантами не было, хотя прирост побега уменьшался по сравнению с контролем на 25 %.

Поскольку известно, что степень ингибирования тяжелыми металлами процессов роста в значительной мере зависит от количества токсичных ионов в органах растений [Herren, Feller, 1996; Vassilev et al., 1998], нами был проведен анализ содержания кадмия в корне и побегах растений ячменя. Его результаты показали, что после 4-суточной экспозиции на растворе кадмия содержание металла в подземных органах 9-дневных проростков было в 1,3 раза выше,



Влияние 4-суточного воздействия кадмия на рост проростков ячменя

чем 3-дневных, что, однако, не отразилось на росте корня. Количество кадмия в сформированных в присутствии металла листьях было практически равным (табл. 1).

Таблица 1. Содержание кадмия в корнях и листьях растений ячменя, мг/кг сырого веса

Возраст растений	Корень	Лист
3-дневные	20,50 ± 0,68*	2,42 ± 0,06
9-дневные	27,02 ± 0,51*	2,61 ± 0,37

Примечание. Концентрация кадмия в растворе 100 мкМ, экспозиция 4 сут.; \* – различия между вариантами опытов достоверны при  $P \leq 0,05$ .

Тем не менее при изучении фотосинтетической активности и водного режима листьев у растений разного возраста отмечена неодинаковая реакция на действие кадмия. Так, при воздействии металла на 3-дневные проростки площадь листа (сформированного за время экспозиции на растворе металла) у опытных растений не отличалась достоверно от контрольных, хотя

параметры, характеризующие фотосинтетическую активность, снижались. В частности, уменьшалось содержание хлорофиллов и каротиноидов, замедлялась скорость электронного транспорта, а также заметно снижалась интенсивность фотосинтеза (на 23 % по сравнению с контролем) (табл. 2). Помимо этого, на нижнем эпидермисе листа образовывалось меньшее количество устьиц, уменьшались размеры замыкающих клеток и размер устьичной щели (табл. 3). В результате у опытных растений не только замедлялся фотосинтез, но и снижались интенсивность транспирации (на 24 % по сравнению с контрольными растениями) и устьичная проводимость (на 39 %). При воздействии металла на 9-дневные растения, наоборот, существенно уменьшалась площадь листа (в опыте она оказалась на 31 % меньше, чем в контроле), в то время как показатели фотосинтетической активности и водного режима оставались на сравнительно высоком уровне. Отмечено лишь некоторое снижение содержания хлорофиллов, а также уменьшение длины замыкающих клеток устьиц, что, однако, не отразилось на скорости фотосинтеза, транспирации и устьичной проводимости.

## Обсуждение

Исследования показали, что в условиях проведенного эксперимента в ответной реакции растений ячменя на действие кадмия существуют отчетливо выраженные возрастные различия. При обработке металлом 3-дневных растений, в первую очередь, замедляется рост корня, снижается функциональная активность

Таблица 2. Влияние кадмия на некоторые показатели фотосинтетического аппарата растений ячменя

Показатели	3-дневные растения			9-дневные растения		
	Контроль	Опыт	% от контроля	Контроль	Опыт	% от контроля
Sl	2,80 ± 0,13	2,65 ± 0,15	95	3,60 ± 0,11	2,50 ± 0,12	69*
Chl a	0,695 ± 0,004	0,580 ± 0,001	83*	0,934 ± 0,010	0,821 ± 0,002	88*
Chl b	0,183 ± 0,007	0,151 ± 0,003	82*	0,259 ± 0,001	0,230 ± 0,004	89*
Car	0,284 ± 0,002	0,237 ± 0,001	83*	0,346 ± 0,002	0,333 ± 0,014	96
Fv/Fm	0,755 ± 0,007	0,755 ± 0,003	100	0,725 ± 0,011	0,716 ± 0,010	99
ETR	62,06 ± 2,90	47,22 ± 0,90	76*	52,56 ± 2,30	55,72 ± 2,32	106
ИФ	5,99 ± 0,17	4,64 ± 0,17	77*	10,20 ± 0,38	10,00 ± 0,35	98

Примечание. Sl – площадь листа (см<sup>2</sup>); Chl a – содержание хлорофилла a (мг/г сырого веса); Chl b – содержание хлорофилла b (мг/г сырого веса); Car – содержание каротиноидов (мг/г сырого веса); Fv/Fm – квантовая эффективность фотосистемы II; ETR – скорость электронного транспорта (условные единицы); ИФ – интенсивность фотосинтеза (мкМ/м<sup>2</sup> · с); \* – различия с контролем достоверны при  $P \leq 0,05$ .

Таблица 3. Влияние кадмия на некоторые показатели водного режима растений ячменя

Показатели	3-дневные растения			9-дневные растения		
	Контроль	Опыт	% от контроля	Контроль	Опыт	% от контроля
Кол-во устьиц	278,0 ± 4,6	219,6 ± 4,9	79*	279,5 ± 4,7	279,5 ± 5,8	100
LS	50,38 ± 0,79	41,88 ± 0,79	83*	45,28 ± 0,65	39,75 ± 0,64	88*
SA	11,31 ± 0,17	7,03 ± 0,18	62*	7,50 ± 0,25	7,46 ± 0,20	99
ИТ	1,44 ± 0,10	1,07 ± 0,07	76*	1,69 ± 0,15	1,62 ± 0,10	96
УП	98,3 ± 7,6	72,02 ± 1,63	61*	120,9 ± 9,0	117,9 ± 3,5	98

Примечание. Количество устьиц – шт./мм<sup>2</sup>; LS – длина замыкающих клеток устьиц (мкм); SA – ширина устьичной щели (мкм); ИТ – интенсивность транспирации (мм/м<sup>2</sup> · с); УП – устьичная проводимость (мм/м<sup>2</sup> · с); \* – различия с контролем достоверны при  $P \leq 0,05$ .

фотосинтетического аппарата и ряд показателей водного режима. Вместе с тем ингибирование роста надземной части не происходит: высота побега опытных растений и площадь листа, сформированного в присутствии металла, не отличались от контрольных. При действии кадмия на 9-дневные растения, наоборот, замедляется рост побега и уменьшаются размеры листовой пластинки. Параметры же, характеризующие активность фотосинтетического аппарата и водный обмен, сохранялись на уровне контрольного варианта. Торможения роста корня также не наблюдалось, несмотря на большее количество металла, удерживаемого корневой системой.

Необходимо сказать, что некоторые из выявленных нами различий в ответной реакции растений ячменя разного возраста на действие кадмия отмечались и на других объектах. В частности, при внесении металла в концентрации 100 мкМ в корнеобитаемую среду 5-дневных проростков бобов за 4 сут экспозиции существенно уменьшался (по сравнению с контролем) прирост корня, а у 8-дневных растений подобных изменений не происходило [Shaw, Rout, 1998]. Заметное уменьшение содержания хлорофилла *b* и каротиноидов в присутствии кадмия в концентрации 400 мкМ отмечено у более молодых растений озимого ячменя, тогда как у растений более старшего возраста эти показатели оставались на уровне контрольного варианта [Vassilev et al., 1998]. У растений *Cjanus cajan* L., находящихся на ранней фазе вегетации, при воздействии кадмия в концентрации 500 мкМ снижалась скорость фотосинтеза, при внесении же металла в субстрат на более поздней фазе подобный эффект не наблюдался [Sheoran et al., 1990].

Выявленные в нашем исследовании возрастные различия в ответной реакции растений ячменя на действие кадмия по ряду показателей согласуются с хорошо известным фактом, что на разных этапах онтогенеза одинаковый по силе стресс может по-разному влиять на растения и их рост [Удовенко, Гончарова, 1982; Жученко, 1988; Шевелуха, 1992; Воскресенская, 2009]. В частности, на ранних фазах развития растения в неблагоприятных условиях среды стремятся обеспечить рост подземных и надземных органов, снижая при этом интенсивность основных физиологических процессов. На более поздних этапах онтогенеза, когда происходит закладка генеративных органов, они стремятся сохранить на высоком уровне активность фотосинтетического аппарата и водный режим за счет торможения роста надземных органов.

Механизмы ингибирующего действия кадмия на фотосинтез и водный обмен, отмеченные

у 3-дневных проростков ячменя, хорошо освещены в литературе. Среди них и обнаруженные в наших экспериментах – уменьшение размеров устьичной щели и устьичной проводимости, замедление транспорта электронов в мембранах тилакоидов, снижение количества фотосинтетических пигментов. Чем именно была обусловлена более высокая устойчивость к металлу фотосинтетического аппарата 9-дневных растений, сказать сложнее. Поскольку возраст исследуемых листьев (соответственно первого и второго) почти одинаков и содержание кадмия в них также практически равно, отмеченное повышение устойчивости можно, вероятно, объяснить возрастными изменениями в метаболизме растений, например, усилением у более взрослых из них интенсивности фотосинтеза листьев [Skórzyńska-Polit, Baszyński, 1997; Шерстнева и др., 2007], что отмечено и в наших экспериментах у контрольных растений, или более эффективной работой адаптационных механизмов. В частности, показано, что у более взрослых растений *C. cajan* металл в концентрации 500 мкМ в меньшей степени ингибирует активность ряда ферментов цикла Кальвина по сравнению с более молодыми [Sheoran et al., 1990]. Обнаружено также значительное увеличение активности некоторых ферментов антиоксидантной защиты (например, каталазы) при добавлении кадмия в питательную среду растений бобов на более поздней фазе вегетации, тогда как при действии металла на более ранней фазе этот эффект выражен слабее [Shaw, Rout, 1998]. Добавим, что у более взрослых растений *Brassica juncea* L. в присутствии кадмия в концентрации 100 мкМ активность фитохелатинсинтазы (отвечающей за синтез фитохелатинов, связывающих тяжелые металлы в клетках корня и листа) увеличивалась в гораздо большей степени, чем у более молодых растений [Heiss et al., 2003]. Однако более точный ответ на вопрос о причинах возрастных различий в реакции растений на действие кадмия требует дополнительных исследований.

## Заключение

Результаты исследований показали, что в условиях проведенного опыта степень ингибирования кадмием физиологических процессов (роста, фотосинтеза и транспирации) у растений ячменя зависит от их возраста. У 3-дневных растений металл в концентрации 100 мкМ задерживает рост корня, подавляет фотосинтетическую активность и нарушает водный режим, рост надземных органов при этом почти не затрагивается. У 9-дневных растений в присутствии кадмия тормозится рост побега и умень-

шаются размеры листа, тогда как замедление роста корня не происходит, а скорость фотосинтеза и транспирации сохраняется на высоком уровне. Выявленные различия в ответной реакции растений ячменя разного возраста на действие кадмия могут быть связаны с онтогенетическими различиями в металлоустойчивости, а также с неодинаковой эффективностью адаптационных механизмов, вовлеченных в защитно-приспособительные реакции растений, находящихся на разных фазах развития.

## Литература

Алексеев Ю. В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л.: Агропромиздат, 1987. 142 с.

Аникиев В. В., Кутузов Ф. Ф. Новый способ определения площади листовой поверхности у злаков // Физиология растений. 1961. Т. 8, № 3. С. 375–377.

Воскресенская О. Л. Экологические аспекты функциональной поливариантности онтогенеза растений: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Казань, 2009. 49 с.

Жученко А. А. Адаптивный потенциал культурных растений (эколого-генетические основы). Кишинев: Штиинца, 1988. 767 с.

Мельничук Ю. П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. Киев: Наук. думка, 1990. 148 с.

Практикум по физиологии растений / Н. Н. Третьяков, Т. В. Карнаухова, Л. А. Паничкин и др. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.

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 НЦ РАН, 2007. 170 с.

Удовенко Г. В., Гончарова Э. А. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сель-

скохозяйственных растений. Л.: Гидрометеиздат, 1982. 144 с.

Шевелуха В. С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Колос, 1992. 594 с.

Шерстнева О. А., Маслова Т. Г., Мамушина Н. С. и др. Фотосинтетический аппарат и светозависимые превращения ксантофиллов в листьях эфемероидов на разных этапах онтогенеза растений // Ботан. журн. 2007. Т. 92, № 1. С. 72–80.

Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биологические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–170.

Heiss S., Wachter A., Bogs J. et al. Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure // J. Exp. Bot. 2003. Vol. 54, N 389. P. 1833–1839.

Herren T., Feller U. Effect of locally increased zinc contents on zinc transport from the flag leaf lamina to the maturing grains of wheat // J. Plant Nutr. 1996. Vol. 19. P. 379–387.

Prasad M. N. V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants // Environ. Exp. Bot. 1995. Vol. 35. P. 525–545.

Sanità di Toppi L., Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants // Environ. Exp. Bot. 1999. Vol. 41. P. 105–130.

Shaw B. P., Rout N. P. Age-dependent responses of *Phaseolus aureus*. Roxb. to inorganic salts of mercury and cadmium // Acta Physiol. Plant. 1998. Vol. 20. N 1. P. 85–90.

Sheoran I. S., Singal H. R., Singh R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) // Photosynth. Res. 1990. Vol. 23. P. 345–351.

Skórzyńska-Polit E., Baszyński T. Differences in sensitivity of the photosynthetic apparatus in Cd-stressed runner bean plants in relation to their age // Plant Sci. 1997. Vol. 128. P. 11–21.

Vassilev A. Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview // J. Central European Agriculture. 2002. Vol. 4, N 1. P. 65–74.

Vassilev A., Tsonev T., Yordanov I. Physiological response of barley plants (*Hordeum vulgare* L.) to cadmium contamination in soil during ontogenesis // Environ. Pollut. 1998. Vol. 103. P. 289–297.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Казнина Наталья Мстиславовна

старший научный сотрудник, к. б. н.  
Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: kaznina@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 762706

### Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д. б. н.  
Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: krcras@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 769710

### Лайдинен Галина Федоровна

старший научный сотрудник, к. б. н.  
Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: laidinen@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 762706

### Батова Юлия Валерьевна

младший научный сотрудник, к. б. н.  
Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: batova@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 762706

### Kaznina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy  
of Science  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: kaznina@krc.karelia.ru  
tel.: (8142) 762706

### Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy  
of Science  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: krcras@krc.karelia.ru  
tel.: (8142) 769710

### Laidinen, Galina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy  
of Science  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: laidinen@krc.karelia.ru  
tel.: (8142) 762706

### Batova, Julia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy  
of Science  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: batova@krc.karelia.ru  
tel.: (8142) 762706