

УДК 581.19:546

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ И СВИНЦА НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В РАСТЕНИЯХ ТРИТИКАЛЕ (*Triticosecale* Wittm.)

Г. А. Абилова

Дагестанский государственный университет

Изучено влияние солей CdSO_4 и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ в концентрациях 10^{-5}M , 10^{-4}M и 10^{-3}M на некоторые физиологические показатели роста и развития растений тритикале (*Triticosecale* Wittm.) сорта ПРАГ-530. Показано, что соли обоих металлов подавляли энергию прорастания семян тем больше, чем выше концентрация соли. Установлено, что изменения показателей роста, накопления биомассы и аккумуляции пролина надземными и подземными органами растений описывались не в виде монотонной зависимости «доза-эффект», а соответствовали парадоксальному эффекту, при котором увеличение дозы металла приводило к снижению его повреждающего воздействия, а снижение, напротив, увеличивало его. В частности, установлено, что экспозиция растений тритикале в течение восьми суток в растворах $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ стимулировала процессы роста по показателям длины и массы побега, а также корневой системы. При этом свинец в концентрации 10^{-4}M оказался более благоприятным для проростков, чем в концентрации 10^{-5}M . Ответная реакция проростков тритикале, выросших на растворах CdSO_4 , была такой же, за исключением концентрации соли 10^{-3}M , когда процессы роста побега были заторможены, а корня – подавлены полностью. Показано, что в ответ на стресс, вызванный солями металлов свинца и кадмия, растения отвечали аккумуляцией значительного количества пролина в листьях и корнях, который выполнял протекторную функцию. Полученные результаты свидетельствуют об устойчивости растений тритикале к действию тяжелых металлов свинца и кадмия и о большей токсичности кадмия по сравнению со свинцом.

Ключевые слова: тяжелые металлы; пролин; рост; стресс; парадоксальный эффект.

G. A. Abilova. EFFECT OF CADMIUM AND LEAD IONS ON THE GROWTH AND CONTENT OF PROLINE IN PLANTS OF TRITICALE (*Triticosecale* Wittm.)

We studied the effect of CdSO_4 and $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ salts in 10^{-5}M , 10^{-4}M and 10^{-3}M concentrations on some physiological indices of growth and development in plants of triticale (*Triticosecale* Wittm.) cultivar PRAG-530. It is shown that both of the metal salts inhibited germination energy and this effect increased along with salt concentration. It was found that the changes in growth rates, biomass accumulation and accumulation of proline by above- and underground organs of plants cannot be described as a monotonic dose-response dependence, but they are consistent with the paradoxical effect that an increase in the metal dose resulted in a decrease of its damaging effects, whereas a reduction of the metal dose, on the contrary, increased its damaging effect. In particular, it was found that the exposure of triticale plants for 8 days in $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ solutions stimulated growth

processes in terms of length and weight of the shoot and the root system. Interestingly, the toxic 10^{-4} M lead concentration was more favorable for the seedlings than the 10^{-5} M concentration. The response of triticale seedlings grown on CdSO_4 solutions was the same, except for the salt concentration of 10^{-3} M, when growth in shoots was inhibited and that in roots was completely suppressed. It is shown that the plants responded to stress caused by lead and cadmium metal salts with substantial accumulation of proline in leaves and roots, and the compound had the protective function. These results indicate that triticale plants are resistant to heavy metals, lead and cadmium, and that cadmium is more toxic to them than lead.

Key words: heavy metals; proline; growth; stress; paradoxical effect.

Введение

Промышленные предприятия, автотранспорт, минеральные удобрения, пестициды и гербициды, используемые в сельском хозяйстве, – все это источники поступления тяжелых металлов (ТМ) в окружающую среду. Самыми токсичными среди них, оказывающими отрицательное воздействие на физиологические и биохимические процессы в растениях, являются кадмий и свинец [Мазей, 2008]. В первую очередь они влияют на такие процессы, как рост растений [Серегин, Иванов, 2001], дыхание, фотосинтез [Караваев и др., 2001], водный обмен и минеральное питание [Титов и др., 2014]. В основе действия ТМ на растительные организмы лежит окислительный стресс, проявляющийся в усилении образования активных форм кислорода (АФК), нарушающих структуру клетки и ее компонентов [Сазанова и др., 2012]. В определенных пределах эти изменения носят обратимый характер благодаря эффективной работе антиоксидантной системы, состоящей из ферментов и низкомолекулярных соединений, одним из которых является пролин [Стеценко и др., 2011]. В отличие от эссенциальных ТМ, которые в минимальных количествах необходимы для правильного протекания процессов метаболизма (например, медь, железо, цинк), кадмий и свинец являются токсичными металлами и даже в небольших дозах приводят к нарушению метаболических процессов. Однако имеются данные о том, что соли кадмия в концентрации 10^{-5} M и ниже стимулируют рост растений бобов и скорость фотосинтеза [Караваев, Довыдыков, 1999].

В связи с этим цель настоящей работы заключалась в выяснении вопроса, как влияют высокие и низкие концентрации солей кадмия и свинца на процессы прорастания семян и роста проростков тритикале. В качестве одного из показателей, отражающих изменения в антиоксидантной системе, мы исследовали содержание пролина в клетках листьев и корней.

Материалы и методы

Объектом исследования служили растения тритикале (*Triticosecale* Wittm.) сорта ПРАГ-530. Семена тритикале дезинфицировали в течение 10 мин слабым раствором перманганата калия, после чего промывали дистиллированной водой. Далее семена проращивали на фильтровальной бумаге: в контроле – на дистиллированной воде, в опыте – на растворах CdSO_4 и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 10^{-5} – 10^{-3} M. Проращивание семян осуществляли при комнатной температуре и естественном освещении в течение восьми дней. На третьи сутки определяли энергию прорастания (ЭП) семян путем подсчитывания количества проросших семян от общего количества семян, взятых для анализа. На восьмые сутки эксперимента оценивали действие солей кадмия и свинца на рост растений по следующим биометрическим показателям: длина главного корня и побега, сырая биомасса подземных и надземных органов. Экстракцию и определение количества свободного пролина проводили в листьях и корнях 8-дневных проростков тритикале [Bates et al., 1973].

Повторность в пределах одного варианта опыта для определения длины и массы побега и корня составляла 10 растений, а для определения содержания свободного пролина в листьях и корнях проростков тритикале – 3–5 растений. В таблицах приведены средние арифметические значения и их стандартные отклонения по трем независимым опытам. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента при 5%-м уровне значимости.

Результаты и обсуждение

Несмотря на низкую проницаемость оболочек семян злаковых [Титов и др., 2014], соли кадмия и свинца оказывали ингибирующее действие на прорастание семян (табл. 1). Одинаковые концентрации солей кадмия и свинца вызывали разную степень ингибирования ЭП семян. Если при концентрации CdSO_4 10^{-5} M не

Таблица 1. Влияние $CdSO_4$ и $Pb(NO_3)_2$ на энергию прорастания (ЭП) семян тритикале сорта ПРАГ-530

Концентрация соли, М	Всего семян	$CdSO_4$		$Pb(NO_3)_2$	
		Количество проросших семян	ЭП, %	Количество проросших семян	ЭП, %
Контроль (H_2O)	60	55 ± 2,6	92	55 ± 2,6	92
10^{-5}	60	48 ± 4,6	80	42 ± 3,6	70
10^{-4}	60	49 ± 3,5	82	53 ± 4,5	88
10^{-3}	60	28 ± 2,2*	47	40 ± 2,6*	67

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 звездочкой обозначены достоверные различия результатов, полученных по отношению к проросткам, выросшим на дистиллированной воде; $p \leq 0,05$.

Таблица 2. Влияние $Pb(NO_3)_2$ на линейные размеры и биомассу корня и побега у 8-дневных проростков тритикале сорта ПРАГ-530

Концентрация соли, М	Побег		Корень	
	Масса (мг)	Длина (мм)	Масса (мг)	Длина (мм)
Контроль (H_2O)	70 ± 6,6	93 ± 4,3	40 ± 6,0	75 ± 5,7
10^{-5}	78 ± 6,9	111 ± 5,7*	63 ± 4,8*	106 ± 5,5*
10^{-4}	98 ± 6,5*	122 ± 2,9*	104 ± 9,4*	114 ± 4,0
10^{-3}	89 ± 5,9	109 ± 6,1	61 ± 7,9	78 ± 6,8

проросло 20 % семян, то в случае с $Pb(NO_3)_2$ – 30 %. Концентрация соли $CdSO_4$ 10^{-3} М оказалась более токсичной, и доля проросших семян составила 47 % против 67 % для $Pb(NO_3)_2$. Необходимо отметить, что концентрация соли $Pb(NO_3)_2$ 10^{-4} М была для семян менее токсичной по сравнению с 10^{-5} М. Такая же закономерность наблюдалась и с $CdSO_4$, но она была не столь явно выражена.

Исследование интенсивности роста растений показало, что экспозиция растений тритикале в течение восьми суток на растворах $Pb(NO_3)_2$ стимулировала увеличение длины и массы побега, а также корневой системы (табл. 2). Стимулирующими были все концентрации соли, но достоверно отличались от контрольных значений длина и масса побега и корня при концентрациях 10^{-5} – 10^{-4} М. Закономерность, отмеченная при изучении ЭП семян, наблюдается и в этом случае, когда концентрация соли 10^{-4} М способствовала росту проростков в большей степени, чем 10^{-5} М (масса и высота побега при концентрации 10^{-4} М были больше по сравнению с контролем соответственно на 40 и 31 %, а при концентрации 10^{-5} М – только на 11 и 19 %).

Были выявлены те же изменения в корнях: при концентрации $Pb(NO_3)_2$ 10^{-5} М длина и масса корня увеличивались соответственно на 58 и 41 %, а при большей концентрации соли (10^{-4} М) масса корня увеличивалась на 160 %, а длина – на 52 %.

Сульфат кадмия также стимулировал ростовые процессы проростков тритикале, за исключением концентрации 10^{-3} М, когда масса побега составляла только 43 %, высота – 30 % от контроля, а рост корня прекращался полностью.

Как отмечено ранее [Berry, Wallace, 1981], зависимость действия ТМ на организм растений от дозы представляет собой кривую, состоящую из трех отрезков, соответствующих трем фазам – фазе дефицита, фазе толерантности и фазе токсичности. Фаза дефицита наблюдается при действии сверхмалых и малых доз ТМ и сопровождается положительным биологическим ответом при увеличении концентрации соли. Вторая фаза – фаза толерантности – характеризуется тем, что увеличение концентрации ТМ не сопровождается изменением интенсивности ответной реакции растительного организма, кривая выходит на плато. И при использовании концентрации ТМ выше пороговых значений наблюдается фаза токсичности, которая при высоких дозах ТМ завершается гибелью растительного организма. В случае эссенциальных элементов, то есть металлов, необходимых растениям в минимальных дозах, присутствуют все три фазы. Для ТМ, не являющихся жизненно необходимыми для растений, а, напротив, приводящих к нарушению метаболических процессов, отсутствует первая фаза, и минимальные дозы таких элементов вызывают эффект, соответствующий фазе толерантности [Berry, Wallace, 1981].

Изменения линейных размеров и биомассы побега и корня свидетельствуют о том, что $Pb(NO_3)_2$ в концентрациях 10^{-5} – 10^{-3} М и $CdSO_4$ в концентрациях 10^{-5} – 10^{-4} М стимулируют рост проростков тритикале. По-видимому, эти концентрации солей соответствуют на кривой «доза-эффект» фазе толерантности. Однако

Таблица 3. Влияние $CdSO_4$ на линейные размеры и биомассу корня и побега у 8-дневных проростков тритикале сорта ПРАГ-530

Концентрация соли, М	Побег		Корень	
	Масса (мг)	Длина (мм)	Масса (мг)	Длина (мм)
Контроль (H_2O)	70 ± 6,6	93 ± 4,3	40 ± 6,0	75 ± 5,7
10^{-5}	88 ± 4,6*	117 ± 3,3*	85 ± 9,5*	109 ± 4,0*
10^{-4}	78 ± 5,3	109 ± 2,6*	87 ± 8,6*	85 ± 5,4
10^{-3}	30 ± 3,7*	28 ± 1,2*	–	–

Таблица 4. Содержание пролина (мкМ/г сырой массы) в листьях и корнях 8-дневных растений тритикале сорта ПРАГ-530 в зависимости от концентрации $Pb(NO_3)_2$ и $CdSO_4$

Концентрация соли, М	$Pb(NO_3)_2$		$CdSO_4$	
	Листья	Корни	Листья	Корни
Контроль (H_2O)	1,33 ± 0,11	0,67 ± 0,07	1,33 ± 0,11	0,67 ± 0,06
10^{-5}	1,77 ± 0,40*	0,65 ± 0,05	1,69 ± 0,10*	0,86 ± 0,09*
10^{-4}	1,40 ± 0,28	0,62 ± 0,02	1,36 ± 0,06	0,85 ± 0,05
10^{-3}	1,82 ± 0,09*	0,79 ± 0,04	5,40 ± 0,43*	–

немонотонность изменений этих показателей может быть обусловлена парадоксальным эффектом, когда меняется направление ответной реакции организма при возрастании силы воздействующего фактора, то есть увеличение дозы токсиканта приводит к снижению его повреждающего действия, и наоборот, снижение дозы токсиканта увеличивает его повреждающий эффект [Ерофеева, 2016].

Главной причиной изменений физиологических и биохимических процессов в растениях при действии ТМ является окислительный стресс, вызванный избыточным количеством АФК. Обезвреживание АФК в стрессовых условиях обеспечивается многоступенчатой системой защиты, в которой участвуют антиоксидантные ферменты. Однако при окислительном стрессе ферменты могут быть инактивированы не только АФК, но и самими ТМ. В этом случае основную и более эффективную роль антиоксидантов выполняют низкомолекулярные метаболиты, одним из которых является пролин. Иминокислота пролин участвует в детоксикации супероксид-радикала и гидроксил-радикала [Радюкина и др., 2008].

Листья тритикале имели более высокий конститутивный уровень пролина (1,33 мкМ/г сырой массы) по сравнению с корнями (0,67 мкМ/г сырой массы) (табл. 4). После 8 суток выращивания растений в присутствии возрастающих концентраций $Pb(NO_3)_2$ наблюдалось достоверное повышение содержания эндогенного пролина. Исключение составила концентрация соли $10^{-4}M$, когда содержание пролина оставалось на уровне контроля. В клетках корней существенных изменений по сравнению с контролем в аккумуляровании пролина не наблюдалось.

Как видно из данных таблицы 4, при двух концентрациях $CdSO_4$ (исключение $10^{-4}M$, листья) наблюдался достоверно высокий пул пролина, превышающий в среднем контрольные значения на 30 %, а в листьях при концентрации $CdSO_4 10^{-3}M$ – на 300 %, рост корневой системы при этой концентрации соли был полностью подавлен.

Таким образом, изменение содержания пролина в листьях проростков тритикале при возрастании концентрации солей свинца и кадмия также происходит по парадоксальному типу. Уменьшение содержания пролина, наблюдаемое при концентрации солей $10^{-4}M$, по сравнению с $10^{-5}M$, по-видимому, связано с использованием его для «тушения» АФК, что благотворно сказалось на росте и накоплении биомассы тритикале. Концентрация $10^{-3}M$ $Pb(NO_3)_2$ и $CdSO_4$ была летальной, о чем свидетельствует ухудшение состояния растений и наивысший уровень пролина в них.

Выводы

На основании сравнительного анализа ответных реакций побегов и корней тритикале на стресс, вызванный действием солей свинца и кадмия, можно сделать следующие выводы:

1. При действии солей кадмия и свинца на проростки тритикале в малых дозах (10^{-5} – $10^{-4}M$) наблюдалось стимулирование процессов роста и накопления биомассы надземными органами и корнями, что свидетельствует об устойчивости этих растений к действию ТМ.
2. Возникновение немонотонных зависимостей «доза-эффект» при возрастающих концентрациях солей свинца и кадмия для линейных размеров, биомассы побега и корня

и содержания в них пролина обусловлено парадоксальным эффектом.

3. Выявлена отрицательная зависимость между изменениями показателей роста и содержанием пролина тритикале при концентрации 10^{-4} М, что свидетельствует об участии пролина в формировании антиоксидантной активности к действию ТМ.
4. Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что соль $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ является менее токсичной для растений тритикале по сравнению с CdSO_4 .

Литература

Ерофеева Е. А. Гормезис и парадоксальные эффекты у растений в условиях автотранспортного загрязнения и при действии поллютантов в эксперименте: дис. ... докт. биол. наук. Нижний Новгород, 2016. 184 с.

Караваев В. А., Довыдьков С. А. Влияние хлорида кадмия на медленную индукцию флуоресценции и фотосинтез листьев бобов // *Биофизика*. 1999. Т. 44, № 1. С. 145–146.

Караваев В. А., Баулин А. М., Гордиенко Т. В. и др. Изменение фотосинтетического аппарата листьев бобов в зависимости от содержания тяжелых металлов в среде выращивания // *Физиология растений*. 2001. Т. 48, № 1. С. 47–54.

Кузнецова С. А., Климачев Д. А. Влияние кадмия на ростовые процессы и интенсивность фотосинтеза растений пшеницы // *Вестник Московского государственного областного университета*. Серия: Естественные науки. 2014. № 5. С. 20–23.

References

Erofeeva E. A. Gormezis i paradoksal'nye jeffekty u rastenij v uslovijah avtotransportnogo zagraznjenja i pri dejstvii pollutantov v experimente [Hormesis and paradoxical effects on plants under conditions of automobile pollution and pollutants impact in an experiment]: DSc (Dr. of Biol.) thesis. Niznij Novgorod, 2016. P. 184.

Karavaev V. A., Dovydkov S. A. Vlijanie hlorida kadmija na medlennuju indukciju fljuorescencii i fotosintez list'ev bobov [Impact of CdCl_2 on slow fluorescence induction and photosynthesis in bean leaves]. *Biophysika* [Biophysics]. 1999. Vol. 44, no. 1. P. 145–146.

Karavaev V. A., Baulin A. M., Gordienko T. V., Dovydkov S. A., Tihonov A. N. Izmenenie fotosinteticheskogo apparata list'ev bobov v zavisimosti ot sodержaniya tyazhelyh metallov v srede vyrashhivaniya [Changes in photosynthetic apparatus of bean leaves depending on heavy metals content in growth medium]. *Physiologija rastenij* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2001. Vol. 48, no. 1. P. 47–54.

Kuznetsova S. A., Klimachev D. A. Vlijanie kadmija na rostovye processy i intensivnost' fotosinteza rastenij pshenitsy [Effect of cadmium on growth processes and

Mazei N. G. Vlijanie ionov Cd^{2+} i Pb^{2+} na rost i razvitiye rastenij pshenicy // *Известия Пензенского государственного педагогического университета*. Серия: Естественные науки. 2008. № 10 (14). С. 33–38.

Радюкина Н. Л., Шашукова А. В., Шевякова Н. И., Кузнецов Вл. В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата // *Физиология растений*. 2008. Т. 55, № 5. С. 721–730.

Сазанова К. А., Башмаков Д. И., Лукаткин А. С. Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // *Труды КарНЦ РАН*. Серия: Экспериментальная биология. 2012. № 2. С. 119–124.

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.

Стеценко Л. А., Шевякова Н. И., Ракитин В. Ю., Кузнецов Вл. В. Пролин защищает растения *Atropa belladonna* от токсического действия солей никеля // *Физиология растений*. 2011. Т. 58, № 2. С. 275–282.

Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 194 с.

Bates L. S. Rapid determination of free proline for stress studies // *Plant Soil*. 1973. Vol. 39. P. 205–207.

Berry W. L., Wallace A. Toxicity: the concept and relationship to the dose response curve // *Journal of plant nutrition*. 1981. No. 3. P. 13–19.

Поступила в редакцию 20.06.2016

photosynthesis intensity of wheat plants]. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo oblastnogo universiteta*. *Seriia: lestestvennyie nauki* [Bulletin MSRU. Series: Natural Sciences]. 2014. No. 5. P. 20–23.

Mazei N. G. Vlijanie ionov Cd^{2+} i Pb^{2+} na rost i razvitiye rastenija pshenicy [Influence of Cd^{2+} and Pb^{2+} ions on growth and development of wheat plants]. *Izvestiia Penzenskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta*. *Seriia: lestestvennyie nauki* [Proceed. of Penza State Pedagogical Un. Series: Natural Sciences]. 2008. No. 10 (14). P. 33–38.

Radjukina N. L., Shashukova A. V., Shevjakova N. I., Kuznetsov Vl. V. Uchastie prolina v sisteme antioksidantnoi zashity shalfeya pri deistvii NaCl i parakvata [Proline involvement in the common sage antioxidant system in the presence of NaCl and paraquat]. *Physiologija rastenij* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2008. Vol. 55, no. 5. P. 721–730.

Sazanova K. A., Bashmakov D. I., Lukatkin A. S. Generacia superoksidnogo anion-radicala v list'jah rastenii pri hronicheskom deistvii tyazholyh metallov [Generation of superoxide anion radical in plants leaves under chronic influence of heavy metals]. *Trudy Karelskogo*

nauchnogo tsentra RAN [Trans. of KarRC of RAS]. 2012. No. 2. P. 119–124.

Serejogin I. V., Ivanov V. B. Fiziologicheskie aspekty toxicheskogo deistviya kadmiya i svintsa na vysshie rasteniya [Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants]. *Physiologiya rastenii* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2001. Vol. 48. P. 606–630.

Stetsenko L. A., Sheviakova N. I., Rakitin V. Ju., Kuznetsov V. V. Prolin zashishhaet rasteniia *Atropa belladonna* ot toxicheskogo deistviia solei nikelya [Proline protects *Atropa belladonna* plants against nickel salt

toxicity]. *Physiologiya rastenii* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2011. Vol. 5, no. 2. P. 275–282.

Titov A. F., Kaznina N. M., Talanova V. V. Tyazholye metally i rasteniya [Heavy metals and plants]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2014. 194 p.

Bates L. S. Rapid determination of free proline for stress studies. *Plant Soil*. 1973. Vol. 39. P. 205–207.

Berry W. L., Wallace A. Toxicity: the concept and relationship to the dose response curve. *Journal of plant nutrition*. 1981. No. 3. P. 13–19.

Received June 20, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Абилова Гуляра Абуталибовна

доцент кафедры физиологии растений и теории эволюции биологического факультета, к. б. н.

Дагестанский государственный университет
ул. Гаджиева, 43а, Махачкала, Республика Дагестан,
Россия, 367000

эл. почта: gulyaraabilova@mail.ru

CONTRIBUTOR:

Abilova, Gulyara

Dagestan State University
43a Gadzhiev St., 367000 Makhachkala,
Republic of Dagestan, Russia
e-mail: gulyaraabilova@mail.ru