

УДК 582.632.1.085:581.52

Т.Ю. Кузнецова, А.Ф. Титов, Л.В. Ветчинникова

Кузнецова Татьяна Юрьевна родилась в 1980 г., окончила в 2003 г. Петрозаводский государственный университет, младший научный сотрудник лаборатории физиологии и цитологии древесных растений Института леса Карельского НЦ РАН. Имеет 23 печатные работы по изучению роста и развития древесных растений.



Титов Александр Федорович родился в 1949 г., окончил в 1972 г. Петрозаводский государственный университет, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией экологической физиологии растений Института биологии Карельского НЦ РАН, заведующий кафедрой ботаники и методики преподавания биологии Карельского государственного педагогического университета, член-корреспондент РАН, председатель Карельского НЦ РАН. Имеет более 400 научных публикаций в области устойчивости растений к неблагоприятным условиям внешней среды.



Ветчинникова Лидия Васильевна родилась в 1951 г., окончила в 1974 г. Петрозаводский государственный университет, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и цитологии древесных растений Института леса Карельского НЦ РАН. Имеет более 140 научных публикаций по изучению роста и развития древесных растений.



ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БЕРЕЗЫ IN VITRO

Установлены заметные изменения в процессах роста побегов, формировании ассимиляционного аппарата и корневой системы, содержании пигментов и жирнокислотном составе отдельных фракций липидов побегов в зависимости от концентрации кадмия.

Ключевые слова: апикальная меристема, культура тканей, кадмий, пигменты, липиды, жирные кислоты, береза.

Среди многочисленных загрязнителей окружающей среды наиболее токсичными после пестицидов считаются тяжелые металлы [5, 6, 8]. Они практически не участвуют в процессах обмена, но активно поглощаются растениями и способны длительное время сохранять токсические свойства, оказывая негативное действие на организм [1, 3, 7]. Это влияние на древесные лесные растения изучено слабо.

Цель работы – исследовать влияние тяжелых металлов на некоторые физиолого-биохимические показатели растений рода *Betula* L. на ранних этапах онтогенеза. Объекты исследования – побеги березы повислой (*Betula pendula* Roth) и карельской (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti), полученные из апикальной меристемы в условиях *in vitro*. Ис-

ходная меристематическая ткань – сегменты побегов, состоящие из стебля (длина около 5 мм) и одного или двух листьев. Питательная среда – минеральная основа Мурашиге – Скуга [11]. Культивирование осуществляли в течение 30 дн. при $t = +(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 16-часовом фотопериоде, освещенности 4500 лк и относительной влажности воздуха около 80 %. Корни образовывались в течение 14 ... 28 дн.

В питательную среду вносили уксуснокислую соль кадмия (Cd^{+2}) в концентрациях 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} или 10^{-3} моль/л. Об устойчивости тканей березы к действию кадмия судили по их способности к морфо- и органогенезу (рост побегов, формирование ассимиляционного аппарата и корневой системы). Работу фотосинтетического аппарата растений березы оценивали по размеру листовых пластинок и содержанию пигментов, которые извлекали 80 %-м ацетоном и определяли спектрофотометрически.

Липиды из тканей экстрагировали смесью хлороформа и метанола по Фолчу [9]. Разделение липидов на фракции (нейтральные, глико- и фосфолипиды) проводили методом колоночной хроматографии с использованием силикагеля Bio-Sil A100-200 Mesh. Жирные кислоты исследовали в виде метиловых эфиров на газожидкостном хроматографе «Хроматэк – Кристалл-5000» (Россия) при температуре капиллярной колонки Zebtron ZB-FFAP – 225°C (изотерма), испарителя – 240°C , детектора – 250°C . Скорость потока газа-носителя (азота) 50 мл/мин. Жирные кислоты идентифицировали с помощью стандартных жирных кислот-метчиков (Supelco, 37 компонентов), а также сопоставлением эквивалентной длины цепи (ECL) экспериментально полученных компонентов с известными данными [10].

Исследования показали, что в условиях культуры *in vitro* с увеличением концентрации ионов кадмия в питательной среде происходит его накопление в растущих побегах. Это приводит к ингибированию процессов морфо- и органогенеза у меристемы березы, степень которого зависит от концентрации металла.

Опытным путем выявлено небольшое стимулирующее действие кадмия в самой низкой концентрации (10^{-6} моль/л) на рост побегов, которое проявлялось уже на 7-й день (рис. 1). Положительное влияние отразилось также на суммарной площади фотосинтезирующей поверхности листьев: она увеличилась более чем на 20 %. Возрастание концентрации кадмия (10^{-5} моль/л) сопровождалось угнетением роста побегов, но без нарушения процессов закладки и формирования новых органов. При повышении концентрации кадмия до 10^{-4} моль/л рост и развитие побегов прекращались; воздействие кадмия в концентрации 10^{-3} моль/л оказалось критическим, рост побегов и развитие листьев полностью прекращались, а через 5 ... 7 дн. растения гибли. По-видимому, в этом случае нарушался процесс избирательного поглощения ионов, в результате поток токсичных ионов кадмия беспрепятственно поступал в растения, а механизмы детоксикации с ним уже не справлялись. Нарушения фотосинтетического аппарата под влиянием кадмия визуально проявлялись не только в изменении размеров листовых пластинок, но и в их хлорозе. Очевидно, основной причиной уменьшения

площади листьев стало негативное влияние металла на процессы деления и растяжения клеток [2, 4].

Необходимо отметить, что присутствие низких (10^{-6} моль/л) концентраций кадмия в среде заметно стимулировало образование корней и их рост в длину: спустя две недели длина вдвое превышала контроль. Однако увеличение концентрации кадмия до 10^{-5} моль/л оказывало ингибирующее

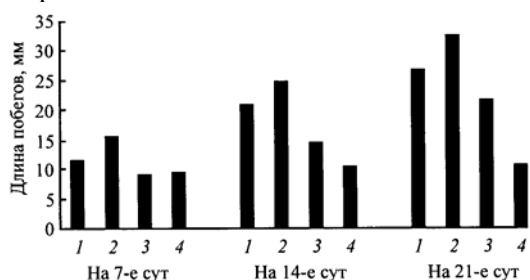
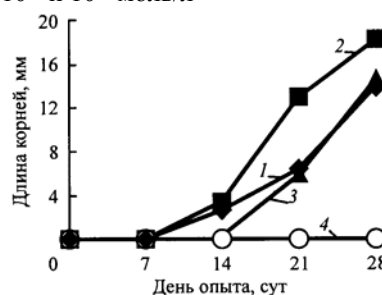


Рис. 1. Влияние кадмия на рост побегов: 1 – контроль; 2 – 4 – концентрация соответственно 10^{-6} , 10^{-5} и 10^{-4} моль/л

Рис. 2. Влияние кадмия на рост корней. Обозначения см. на рис. 1



влияние на скорость образования корней и их рост в длину: они развивались с отставанием на одну неделю по сравнению с контролем (рис. 2). В присутствии кадмия при концентрации 10^{-4} моль/л и выше деление и растяжение клеток корня, очевидно, полностью блокировалось, поскольку образование корней не наблюдалось, а развитие растений сильно угнеталось, и уже через две недели они гибли.

В изученном диапазоне концентраций кадмия (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} моль/л), несмотря на стимулирующее действие самой низкой из них на рост и развитие побегов, нами отмечено снижение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях соответственно на 10, 30, 70 % по отношению к контролю. Особенно заметно это проявилось в отношении суммы хлорофиллов (рис. 3).

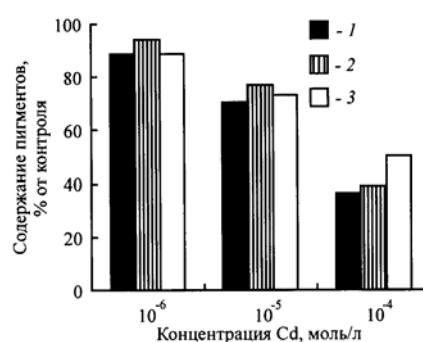


Рис. 3. Влияние кадмия на содержание пигментов: 1, 2 – хлорофилл <a> и соответственно; 3 – каротиноиды

Длительное выращивание (в течение 30 сут) меристемы березы *in vitro* на среде с добавлением кадмия в концентрациях от 10^{-6} до 10^{-4} моль/л приводило также к существенным изменениям и в жирнокислотном составе липидов. Анализ нейтральных липидов, глико- и фосфолипидов показал, что в побегах, полученных *in vitro*, содержится около 15 жирных кислот с числом углеродных атомов от 14 до 24, однако относительное содержание каждой из них неодинаково (см. таблицу). Среди насыщенных жирных кислот преобладала пальмитиновая $C_{16:0}$ (20 ... 25 %), а среди ненасыщенных – линолевая $C_{18:2}$ (23 ... 40 %) и линоленовая $C_{18:3}$ (18 ... 39 %).

Относительное содержание жирных кислот в липидах изученных тканей отличалось от контрольного варианта, но в разной степени в зависимости от фракции липидов (нейтральные, глико- и фосфолипиды) и концентрации вносимого металла. Так, если в контроле содержание ненасыщенных жирных кислот заметно преобладало над насыщенными: в нейтральных липидах – в 2,1 раза, в глико- и фосфолипидах – в 2,6 и 2,4 раза

соответственно, то внесение кадмия в концентрации 10^{-4} моль/л вызывало увеличение доли насыщенных жирных кислот во всех фракциях исследованных липидов и уменьшение соотношения ненасыщенных жирных кислот к насыщенным (U/S). Более того, применение кадмия привело к почти полному выравниванию соотношения ненасыщенных и насыщенных жирных кислот, что особенно четко проявилось во фракции нейтральных липидов, где данный показатель был близок к единице.

Исследования показали, что увеличение содержания ионов кадмия в питательной среде приводило к повышению количества насыщенных жирных кислот. Однако во фракции нейтральных липидов оно обеспечивалось за счет пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$), а во фракции гликолипидов, кроме того, стеариновой ($C_{18:0}$) и длинноцепочковых жирных кислот ($C_{\geq 20:0}$) на фоне снижения пальмитиновой.

Эти результаты подтверждают важную роль перекисного окисления липидов как основного механизма разрушения полиненасыщенных жирных кислот при действии тяжелых металлов. В частности, под влиянием кадмия разрушались ненасыщенные жирные кислоты. Только в вариантах с небольшими концентрациями кадмия (10^{-6} , 10^{-5} моль/л) содержание линоленовой кислоты несколько увеличилось. При концентрации 10^{-4} моль/л отмечено заметное падение ее относительного содержания, особенно резко выраженное во фракции гликолипидов. Исходя из этого, можно предположить, что стабилизация уровня линоленовой кислоты при незначительной концентрации металла достигалась за счет предотвращения ее окислительного разрушения и усиления синтеза данного компонента мембранных липидов.

Таким образом, влияние кадмия на рост и развитие побегов березы на ранних этапах онтогенеза отрицательно сказывается на целом комплексе морфо-физиологических изменений, включая замедление процессов роста и развития, снижение содержания зеленых пигментов и ингибирование синтеза ненасыщенных жирных кислот. Однако в низких концентрациях он спо-

способен оказывать стимулирующее влияние на рост побегов, формирование листового аппарата и процессы корнеобразования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Алексеев, Ю.В.* Тяжелые металлы в почвах и растениях [Текст] / Ю.В. Алексеев. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 142 с.
2. *Гуральчук, Ж.З.* Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам [Текст] / Ж.З. Гуральчук // Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. – Т. 26, № 2. – С. 107–117.
3. *Кабата-Пендиас, А.* Микроэлементы в почвах и растениях [Текст] / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. – 440 с.
4. *Кузнецов, В.В.* Физиология растений [Текст] / В.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – Изд. 2-е. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.
5. *Кулагин, А.А.* Древесные растения и биологическая консервация промышленных загрязнителей [Текст] / А.А. Кулагин, Ю.А. Шагиева. – М.: Наука, 2005. – 190 с.
6. *Никонов, В.В.* Рассеянные элементы в бореальных лесах [Текст] / В.В. Никонов [и др.]; отв. ред. А.С. Исаев. – М.: Наука, 2004. – 616 с.
7. *Титов, А.Ф.* Устойчивость растений к тяжелым металлам [Текст] / А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен. – Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2007. – 172 с.
8. *Черненкова, Т.В.* Реакция лесной растительности на промышленное загрязнение [Текст] / Т.В. Черненкова – М.: Наука, 2002. – 191 с.
9. *Folch, J.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [Text] / J. Folch, M. Lees, G.H. Stanley //Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, N 1. – P. 497–509.
10. *Jamieson, G.R.* GLC identification techniques for long-chain unsaturated fatty acids [Text] / G.R. Jamieson // Chromatogr. Sci. – 1975. – Vol.13. – P. 491–497.
11. *Murashige, T.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures [Text] / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15. – P. 437–497.

Институт леса Карельского НЦ РАН

Поступила 18.09.07

T.Yu. Kuznetsova, A.F. Titov, L.V. Vetchinnikova

Forest Institute of Karelian Scientific Centre of RAS

Influence of Cadmium on Morpho-physiological Characteristics of Birch *in vitro*

Visible changes are established in sprouts' growth processes, formation of assimilation apparatus and root system, content of pigments and fatty-acid composition of separate lipids' fractions of lipids of sprouts depending on cadmium concentration.

Keywords: apical system, tissue culture, cadmium, pigments, lipids, fatty acids, birch.
