

На правах рукописи

Копия

Казнина
Наталья Мстиславовна

**ВЛИЯНИЕ СВИНЦА И КАДМИЯ НА РОСТ, РАЗВИТИЕ
И НЕКОТОРЫЕ ДРУГИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ПРОЦЕССЫ ОДНОЛЕТНИХ ЗЛАКОВ
(РАННИЕ ЭТАПЫ ОНТОГЕНЕЗА)**

03.00.12 – физиология и биохимия растений

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Петрозаводск
2003 г.

Работа выполнена в лаборатории стресс-физиологии растений Института биологии Карельского научного центра РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации и Республики Карелия А.Ф. Титов

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РСФСР и КАССР С.Н. Дроздов

кандидат биологических наук, доцент Н.Г. Осмоловская

Ведущая организация: Петрозаводский государственный университет

Защита состоится "28" мая 2003 года в 14 час. 15 мин. на заседании диссертационного совета К 002.035.01 по присуждению ученой степени кандидата биологических наук в Институте биологии Карельского научного центра РАН по адресу: 185610, Республика Карелия, г. Петрозаводск, ул.Пушкинская, 11
Тел. (8142) 769810, факс (8142) 769810.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельского научного центра РАН.

Автореферат разослан " " 2003 г.

153577K

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

Л.В. Топчиева



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние десятилетия в связи с быстрым развитием промышленности во всем мире наблюдается значительное возрастание содержания тяжелых металлов в окружающей среде. Свинец и кадмий считаются одними из наиболее токсичных среди них (Алексеев, 1987). Несмотря на то, что кадмий не является необходимым для жизнедеятельности растений элементом, а свинец нужен лишь в очень малых концентрациях для работы некоторых ферментов, эти металлы активно поглощаются растениями, сохраняют свои токсические свойства в течение продолжительного времени, а также обладают кумулятивным действием, что усугубляет их опасность (Минеев и др., 1982). В связи с этим, изучение реакции растений на присутствие повышенных концентраций тяжелых металлов в окружающей среде вызывает большой научный и практический интерес.

Влиянию свинца и кадмия на растения посвящено довольно большое число публикаций как зарубежных (Bazzaz et al., 1974; Ernst, 1976; Foy et al., 1978; Krupa, Baszynski, 1985; Lee et al., 1985; Кабата-Пендиас; Пендиас; 1989; Salim et al., 1995; Siedleska, 1995; Vassilev et al., 1995, 1997; Wojcik, Tukendorf, 1997), так и отечественных (Ковда и др., 1979; Первунина и др., 1981; Алексеева-Попова; 1983; Алексеев; 1987; Нестерова; 1989; Ягодин; 1989; Мельничук; 1990; Ильин; 1991; Добровольский, 1992; Титов и др., 1995; Таланова и др., 1999 и др.) авторов. Однако, несмотря на это многие аспекты их действия на растительный организм остаются слабо изученными. Например, в последнее время появился ряд работ, посвященных анализу влияния тяжелых металлов на меристемы корней (Brescle, 1991; Бессонова, 1991; Серегин, 1999), тогда как их действие на апикальные меристемы стебля, судя по литературе, не изучалось вообще. Недостаточно изучено влияние тяжелых металлов на рост растений в процессе их онтогенеза. Практически нераскрытым остается вопрос и о действии свинца и кадмия на сам процесс развития. Работы в этой области ограничиваются главным образом наблюдением за изменением под влиянием тяжелых металлов фенологических фаз, что далеко не во всех случаях дает объективную и точную картину.

Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы явилось изучение влияния свинца и кадмия на процессы роста, развития, а также некоторые физиологические показатели и процессы, связанные с работой

листового аппарата, у растений однолетних злаков на ранних этапах их онтогенеза.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- исследовать влияние свинца и кадмия на всхожесть семян однолетних злаков;
- установить характер изменения ростовых показателей однолетних злаков в присутствии свинца и кадмия в зависимости от фазы развития растений;
- изучить с помощью морфофизиологического метода влияние свинца и кадмия на рост и дифференциацию апикальных меристем стебля однолетних злаков;
- оценить влияние свинца и кадмия на темпы органогенеза однолетних злаков;
- исследовать влияние свинца и кадмия на некоторые физиологические показатели и процессы однолетних злаков, связанные с работой листового аппарата.

Научная новизна работы. Проведено комплексное исследование влияния ионов свинца и кадмия на рост и развитие однолетних злаков на ранних этапах онтогенеза (с момента прорастания семян до фазы 3-х настоящих листьев). Выявлена способность семян ячменя и овса успешно прорасти при наличии в субстрате достаточно высоких концентраций свинца и кадмия. Показано ослабление ингибирующего действия свинца и кадмия (при их одноразовом внесении в субстрат) в отношении основных ростовых показателей растений однолетних злаков в процессе онтогенеза. С помощью морфофизиологического метода впервые установлено отрицательное влияние свинца и кадмия на рост и дифференциацию стеблевых апикальных меристем, а также на темпы органогенеза злаков. Обнаружены различия в изменении под влиянием свинца и кадмия ряда физиологических процессов и показателей, связанных с работой листового аппарата злаков: в зависимости от концентрации металлов отмечена их стимуляция, отсутствие реакции или подавление активности. Установлены летальные концентрации кадмия в корнеобитаемой среде (используемого в форме уксуснокислой соли), приводящие не только к полной остановке роста и развития однолетних злаков, но и к их гибели.

Практическая значимость работы. Полученные экспериментальные данные дополняют и расширяют современные представления об адаптивных возможностях высших растений по отношению к избытку тяжелых металлов в корнеобитаемой среде и могут быть использованы при чтении

курса и спецкурсов по физиологии растений в ВУЗах. Результаты исследований позволяют предложить использование морфофизиологического метода и таких показателей, как длина конуса нарастания и степень его дифференциации для оценки металлоустойчивости растений однолетних злаков на ранних этапах онтогенеза.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на Всероссийской молодежной научной конференции "Растение и почва" (Санкт-Петербург, 1999), Международной конференции "Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова восточной Фенноскандии" (Петрозаводск, 1999), VII Молодежной конференции ботаников (Санкт-Петербург, 2000), VII Конференции молодых ученых "Проблемы физиологии роста и генетики на рубеже третьего тысячелетия" (Минск, 2000), Международной конференции "Регуляция роста, развития и продуктивности растений" (Минск, 2001), Международной конференции "Актуальные вопросы экологической физиологии растений в XXI веке" (Сыктывкар, 2001), II Международной конференции по анатомии и морфологии растений (Санкт-Петербург, 2002).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 2 статьи.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка литературы. Работа изложена на 143 страницах текста, содержит 4 таблицы, 27 рисунков. Список литературы включает в себя 335 источников, из них 168 – иностранных авторов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования были выбраны однолетние яровые злаки (сем. *Poaceae*) ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare L.*) сорта Дина и овес посевной (*Avena sativa L.*) сорта Фаленский.

Все исследования проводились в условиях вегетационного опыта, с использованием песчаной культуры. При изучении влияния свинца и кадмия на рост и развитие злаков были использованы уксуснокислые соли свинца (в концентрациях 200, 400, 600, 800 и 1000 мг/кг субстрата) и кадмия (100, 200, 400, 600, 800 и 1000 мг/кг субстрата), которые вносили одноразово при закладке экспериментов. Семена злаков высевали в сосуды, содержащие 1 кг сухого песка. Плотность посева – 12 растений на сосуд. Все измерения проводили по мере достижения растениями контрольного варианта следующих фаз развития: проростков, 2-х листьев, 3-х листьев.

Всхожесть семян в присутствии тяжелых металлов определяли как процент проросших семян от их общего количества. Анализ морфологических признаков проводили по стандартной методике с использованием следующих показателей: длина корня, накопление его биомассы, высота побега, размеры листовой пластинки (длина, ширина, площадь), накопление биомассы побега. Площадь листовой пластинки злаков определяли по формуле $S=2/3 \cdot L \cdot D$, где L – длина листа, D – ширина листа (Аникиев, Кутузов, 1961). Морфофизиологические параметры, такие как длина апикальной меристемы стебля (конуса нарастания) и количество заложившихся на конусе элементов соцветия, определяли с помощью бинокулярной лупы МБС-10. Оценку фенологического развития проводили визуально, с использованием градации, предложенной И.Н. Бейдеман для злаков (Бейдеман, 1974). Этапы органогенеза устанавливали по состоянию апикальных меристем стебля по методике Ф.М. Куперман (1968).

При изучении влияния свинца и кадмия на листовой аппарат растений использовали уксуснокислые соли свинца в концентрациях 200, 400 и 800 мг/кг и кадмия – 100, 200 и 400 мг/кг субстрата. Были исследованы такие показатели, как содержание зеленых пигментов, интенсивность и чистая продуктивность фотосинтеза, интенсивность темнового дыхания и оводненность тканей листа. Количество хлорофилла и оводненность тканей изучали на 1-ом, 2-ом и 3-ем листе злаков по мере их формирования, остальные показатели – у растений, находящихся в фазе 2-х листьев.

Оводненность тканей анализировали весовым методом, высушивая листья в термостате до постоянного веса при температуре 105°C (Аринюшкина, 1970). Содержание хлорофиллов изучали спектрофотометрически, экстрагируя их 80%-ным ацетоном (Шлык, 1971). Количество пигментов рассчитывали по формулам Вернона (Vernon, 1969).

Интенсивность фотосинтеза и дыхания анализировали у растений, находящихся в фазе 2-х листьев. Растения выращивали в эмалированных сосудах, содержащих 2 кг песка. Определение интенсивности CO_2 -газообмена проводили в камере фитотрона при температуре 20°C, освещенности 30 клк (Таланов и др., 1982; Курец, Попов, 1991).

Чистую продуктивность фотосинтеза определяли по приросту сухой биомассы за конкретное время, отнесенное к единице листовой поверхности и рассчитывали по формуле: $ЧПФ = (V_2 - V_1) / 0,5 \cdot (L_1 + L_2)$, где V_1 и V_2 – сухая масса растений в начале и конце учетного периода, L_1 и L_2 – площади листьев (Третьяков, 1990).

Повторность в пределах одного опыта 2-6-кратная, каждый опыт повторяли не менее двух раз. Результаты экспериментов обработаны с

помощью методов вариационной статистики с использованием программы Excel. Достоверность результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента при $P \leq 0,05$ (Доспехов, 1979).

На представленных в главе автореферата «Результаты исследований» таблицах и графиках приведены данные по влиянию тяжелых металлов на изученные показатели у растений ячменя. Действие свинца и кадмия на те же признаки у растений овса было по своему характеру аналогичным.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Влияние свинца и кадмия на всхожесть семян однолетних злаков

Изучение всхожести семян ячменя и овса показало, что на 3-и сутки после посева процент проросших семян (по сравнению с контрольным вариантом) под влиянием тяжелых металлов заметно уменьшался, причем тем сильнее, чем выше была концентрация металлов в субстрате (табл. 1). Ингибирование прорастания семян, однако, носило временный

Таблица 1
Влияние свинца и кадмия на всхожесть семян ячменя

Концентрация солей металлов, мг/кг субстрата	Кол-во проросших семян, %			
	Pb		Cd	
	3 сут.	7 сут.	3 сут.	7 сут.
0	85±1,2	100	75±1,0	100
100	–	–	70±1,5	100
200	80±1,1	100	67±1,2	100
400	59±1,2	100	18±1,3	98±1,3
600	29±1,4	100	10±1,3	92±1,2
800	22±1,3	100	7±1,6	68±1,3
1000	18±1,1	100	5±1,3	60±1,2

характер и на 7-е сутки всхожесть семян ячменя в вариантах с применением ацетата свинца в концентрациях 200-1000 мг/кг и кадмия в концентрациях 100-600 мг/кг была равной 100% или приближалась к этому значению. Лишь при использовании более высоких концентраций соли кадмия (800 и 1000 мг/кг) количество проросших семян

оставалось на уровне 60-70%. Обнаруженная в наших опытах задержка начала прорастания семян могла быть вызвана действием свинца и кадмия на деление и растяжение клеток зародыша (Мельничук, 1990; Лянгузова, 1999). Однако, судя по исследованиям ряда авторов (Соболев и др., 1982; Мельничук, Лишко, 1991), через определенный промежуток времени ионы металлов могут связываться аминокислотами, поступающими из запасующих тканей семени в процессе роста зародыша. Они используются для обезвреживания ионов металлов и только после того, как избыток свинца и кадмия будет переведен в нетоксичную форму, у корня и стебля появляется возможность использовать эти аминокислоты в ростовых процессах. В целом, результаты исследований показали, что семена ячменя и овса обладают значительной металлоустойчивостью и способны прорасти даже в присутствии довольно высоких концентраций свинца и кадмия в корнеобитаемой среде.

2. Изменение ростовых показателей однолетних злаков при действии свинца и кадмия на ранних этапах онтогенеза

Фаза проростков. Изучение влияния тяжелых металлов на рост однолетних злаков, находящихся в фазе проростков, показало, что с увеличением концентрации свинца и кадмия в субстрате все изученные ростовые параметры уменьшаются (по отношению к контролю) (рис. 1). Степень ингибирования ростовых процессов зависела от токсичности металла и его концентрации. Было отмечено, что статистически достоверное снижение всех ростовых показателей происходит в присутствии ацетата свинца в концентрациях от 400 мг/кг и выше и кадмия — от 200 мг/кг и выше. В большей степени у растений ингибировались рост корня и накопление подземной биомассы; в меньшей — рост побега, увеличение размеров листовой пластинки, накопление надземной массы. Очевидно, это связано с тем, что корень является первым барьером на пути транспорта тяжелых металлов из почвы в растение и, начиная с ранних этапов развития, именно он берет на себя основную функцию по аккумуляции и детоксикации металлов.

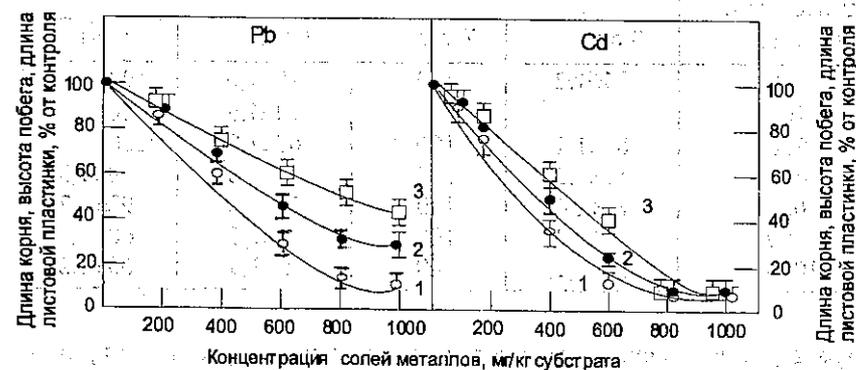


Рис. 1. Влияние свинца и кадмия на ростовые показатели растений ячменя в фазу проростков
1 - длина корня; 2 - высота побега; 3 - длина листовой пластинки

сичности металла и его концентрации. Было отмечено, что статистически достоверное снижение всех ростовых показателей происходит в присутствии ацетата свинца в концентрациях от 400 мг/кг и выше и кадмия — от 200 мг/кг и выше. В большей степени у растений ингибировались рост корня и накопление подземной биомассы; в меньшей — рост побега, увеличение размеров листовой пластинки, накопление надземной массы. Очевидно, это связано с тем, что корень является первым барьером на пути транспорта тяжелых металлов из почвы в растение и, начиная с ранних этапов развития, именно он берет на себя основную функцию по аккумуляции и детоксикации металлов.

Фазы 2-х и 3-х листьев. Наблюдения за ростом однолетних злаков в условиях повышенных концентраций свинца и кадмия в процессе дальнейшего развития растений показали, что ингибирующее действие металлов (при их одноразовом внесении в почву) в отношении таких ростовых параметров, как длина корня, высота побега и накопление подземной и надземной биомассы в определенном диапазоне концентраций (Pb — 200-1000 мг/кг и Cd — 100-600 мг/кг) уменьшается в процессе онтогенеза злаков. Наиболее ярко это проявилось в отношении роста корня. Так, если в фазу проростков при использовании ацетата свинца в концентрации 1000 мг/кг длина корня ячменя составила 15% от контрольного варианта, то в фазу 3-х листьев — 45% (рис. 2). Аналогичная картина наблюдалась и при использовании

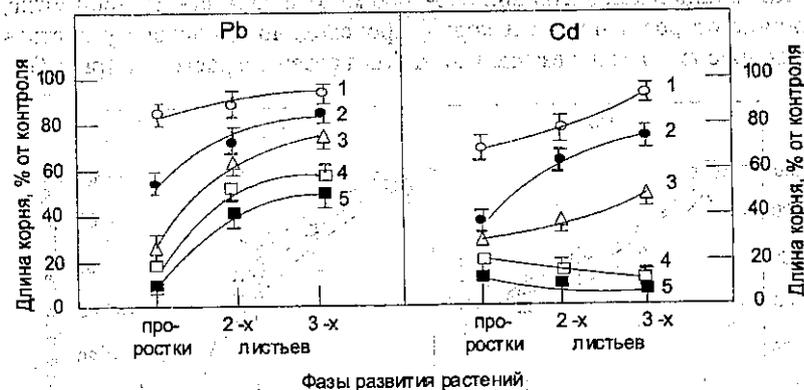


Рис. 2. Влияние свинца и кадмия на длину корня растений ячменя на разных фазах развития
Концентрация солей металлов: 1 - 200 мг/кг; 2 - 400 мг/кг; 3 - 600 мг/кг; 4 - 800 мг/кг; 5 - 1000 мг/кг субстрата

ацетата кадмия в концентрациях от 100 до 600 мг/кг. Применение более высоких концентраций соли кадмия (800 и 1000 мг/кг) приводило к торможению всех ростовых процессов уже в фазу проростков. По-видимому, в этом случае клетки утрачивали способность к делению уже на ранних этапах развития растений, а рост корня и побега продолжался какое-то время лишь за счет растяжения. Однако в дальнейшем под влиянием указанных концентраций происходила гибель растений.

Отмеченное нами снижение ингибирующего воздействия свинца и кадмия в отношении ряда ростовых показателей корня и побега в процессе развития однолетних злаков, очевидно, связано с постепенным уменьшением количества токсичных ионов в клетках в результате действия различных механизмов детоксикации металлов. Наиболее известными среди них являются: иммобилизация свинца и кадмия клеточными стенками корней (Culter, Rains, 1974; Алексеева-Попова, 1987; Taylor, 1991), связывание органическими кислотами, аминокислотами, фитохелатинами в цитоплазме (Grill et al., 1985; Reddy, Prasad, 1992; Siedleska, 1995), компартментация и накопление их в вакуолях клеток (Ernst et al., 1975; Brookes et al., 1981; Thyman, 1992), образование особых белков металлотионеинов (Zenk, 1990; Rauser, 1995 и др.).

Изучение влияния тяжелых металлов на размеры (длину, ширину и площадь) листовых пластинок ячменя и овса показало, что уменьшение (по отношению к контролю) этих параметров в присутствии ацетата свинца в концентрации 200-1000 мг/кг и кадмия – 100-600 мг/кг, в отличие от роста побега и корня, происходило одинаково у листьев разных ярусов, то есть независимо от фазы развития растений (рис. 3).

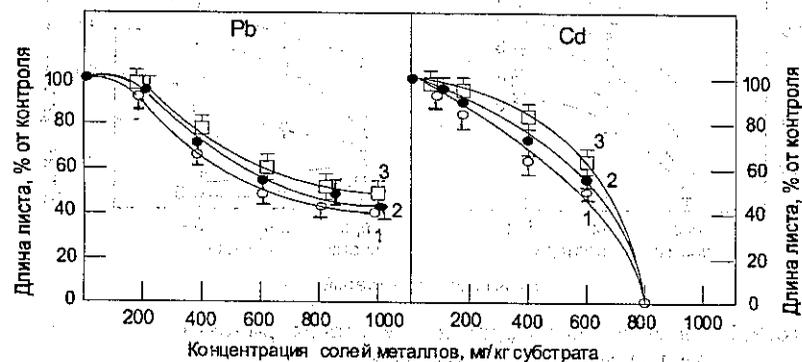


Рис. 3. Влияние свинца и кадмия на длину листьев у растений ячменя
1 - 1-ый лист; 2 - 2-ой лист; 3 - 3-ий лист

Возможно, это связано с особенностями морфогенеза однолетних злаков, у которых примордии первых трех листьев уже сформированы в зародыше на I этапе органогенеза (Бурень, 1985), в связи с чем, степень ингибирования свинцом и кадмием «стартового» роста листовых пластинок всех трех листьев оказалась одинаковой. В присутствии более высоких концентраций ацетата кадмия (800 и 1000 мг/кг) нами отмечено нарушение процесса листообразования: листовые пластинки 1-го листа были свернуты в трубочку, а 2-го и 3-го не формировались вообще.

При сравнении действия свинца и кадмия на такой показатель как отношение биомассы побега к биомассе корня злаков были получены следующие результаты (рис. 4): С увеличением концентрации обоих

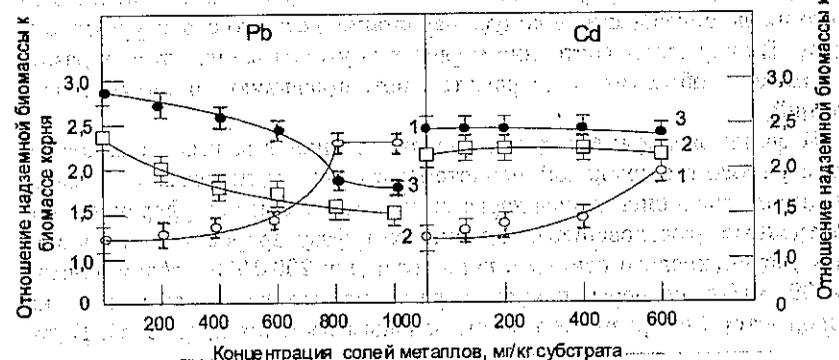


Рис. 4. Влияние свинца и кадмия на отношение надземной биомассы к биомассе корня у растений ячменя
1 - фаза проростков; 2 - фаза 2-х листьев; 3 - фаза 3-х листьев

металлов (ацетата свинца – до 1000 мг/кг, ацетата кадмия – до 600 мг/кг) отношение биомассы побега к биомассе корня изменялось, причем по-разному. Если в фазу проростков оно увеличивалось (то есть накопление биомассы корней угнеталось в гораздо большей степени, чем побегов), то в фазы 2-х и 3-х листьев, или уменьшалось (в экспериментах со свинцом), или оставалось на уровне контрольного варианта (в экспериментах с кадмием), что говорит о снижении ингибирующего действия тяжелых металлов в отношении накопления подземной биомассы в эти фазы развития злаков. При использовании более высоких концентраций ацетата кадмия (800 и 1000 мг/кг), как это уже отмечалось, рост корня и побега полностью прекращался в фазу проростков.

3. Рост и дифференциация стеблевых апикальных меристем

Способность растения к постоянному росту связана с функционированием его апикальных меристем, в которых происходят процессы, определяющие дальнейший рост и морфогенез органов (Иванов, 1974). Их важность для жизнедеятельности растений связана еще и с тем, что это основные места синтеза таких гормонов как цитокинины (апикальная меристема корня) и ауксины (апикальная меристема стебля) (Полевой, Саламатова, 1991). Однако, как уже отмечалось, действие тяжелых металлов на апикальные меристемы стебля не изучалось. Однолетние злаки, в частности, ячмень и овес являются удобными объектами для такого рода исследований, поскольку у них рост побега растяжением начинается только после образования в конусе нарастания всех его структурных элементов. В силу этого, состояние меристемы уже на ранних этапах развития может объективно отражать потенциальную продуктивность растений.

В своих экспериментах для оценки влияния тяжелых металлов на рост и развитие апикальной меристемы стебля мы использовали такие показатели, как длина конуса нарастания и степень его дифференциации. Проведенные исследования показали, что в фазу проростков в присутствии уксуснокислого свинца в концентрациях 200-1000 мг/кг и кадмия 100-600 мг/кг размеры конуса нарастания ячменя и овса заметно уменьшаются (по сравнению с контрольным вариантом) (рис. 5). В это

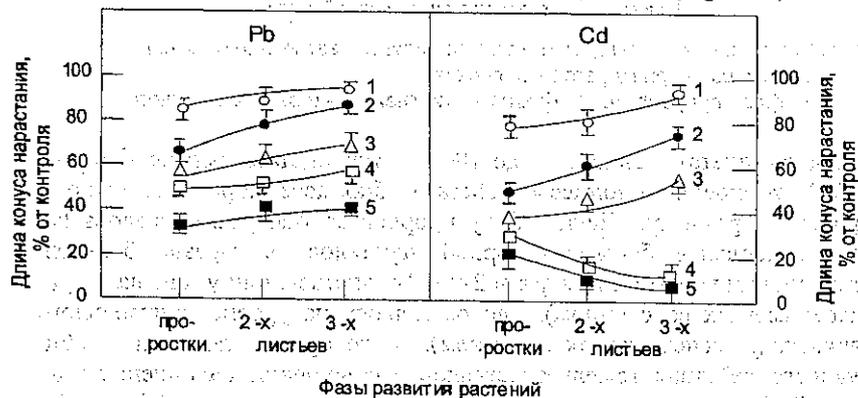


Рис. 5. Влияние свинца и кадмия на длину конуса нарастания растений ячменя на разных фазах развития. Концентрация солей металлов: 1 - 200 мг/кг; 2 - 400 мг/кг; 3 - 600 мг/кг; 4 - 800 мг/кг; 5 - 1000 мг/кг субстрата

время апикальная меристема стебля находится в вегетативном состоянии (I и II этапы органогенеза) и происходит ее дифференциация на зачаточные узлы, междоузлия и листья. При дальнейшем развитии злаков (фаза 2-х, 3-х листьев), когда конус нарастания переходит в генеративную фазу развития (III и IV этап органогенеза) и образуются будущие элементы соцветия, ингибирующее действие металлов в отношении длины конуса нарастания однолетних злаков несколько уменьшается.

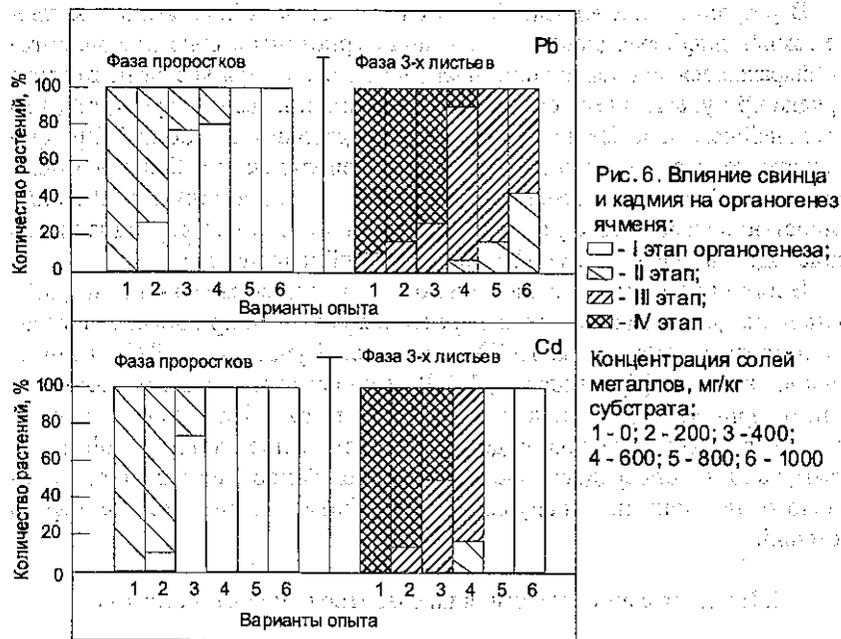
В результате исследований нами также было обнаружено замедление темпов дифференциации апикальной меристемы стебля злаков, которое выражалось в уменьшении закладываемых на конусе осей второго порядка при увеличении концентраций свинца и кадмия в субстрате, что в дальнейшем неизбежно скажется отрицательно на общей продуктивности колоса и целого растения. При использовании более высоких концентраций ацетата кадмия (800 и 1000 мг/кг), рост конуса нарастания полностью прекращается уже в фазу проростков, его дифференциации не происходит, в результате морфогенез растений нарушается.

В литературе имеются сведения о причинах, вызывающих задержку роста и дифференциации конуса нарастания растений при действии высоких температур (Чельцова, 1980), засоления (Чупринина, 1972) и повышенной радиации (Гродзинский, 1989). В присутствии тяжелых металлов такими причинами, по нашему мнению, могут быть как непосредственное влияние металлов на деление и растяжение клеток самой меристемы, так и их опосредованное действие, связанное с изменением минерального питания или нарушениями в фотосинтетическом аппарате растений.

4. Влияние свинца и кадмия на развитие однолетних злаков

Изучение влияния свинца и кадмия на процессы развития однолетних злаков было проведено с использованием фенологического и морфофизиологического методов исследований. Фенологические наблюдения показали, что в присутствии свинца и кадмия в корнеобитаемой среде особо выраженных изменений в сроках наступления фенофаз у опытных растений ячменя и овса (по сравнению с контрольными) не наблюдается, лишь при применении высоких концентраций солей металлов (Pb - 1000 мг/кг, Cd - 600-1000 мг/кг) мы могли отметить их задержку. Использование морфофизиологического метода позволило нам с большей объективностью судить о влиянии тяжелых металлов на процесс развития. Так, на 10-е сутки после посева у всех растений контрольного варианта и большинства растений опытных

вариантов отмечалась одна и та же фенологическая фаза развития — фаза проростков (1-го настоящего листа). Исследование же состояния конуса нарастания у злаков показало, что уже при использовании ацетата свинца в концентрации 200 мг/кг и кадмия — 100 мг/кг наблюдается задержка наступления этапов органогенеза (рис. 6). По мере дальнейшего развития растений отставание в темпах органогенеза несколько сглаживалось.



В целом, необходимо подчеркнуть, что в присутствии уксуснокислого свинца в концентрациях 200-1000 мг/кг и кадмия — 100-600 мг/кг нарушений в прохождении органогенеза растениями ячменя и овса не обнаружено, наблюдалось лишь замедление наступления отдельных его этапов. Только использование ацетата кадмия в концентрациях 800 и 1000 мг/кг приводило к нарушению формообразования и остановке развития злаков на I этапе органогенеза.

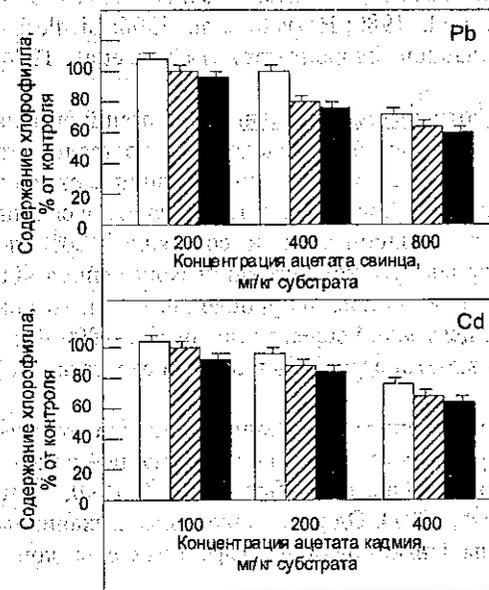
Таким образом, исходя из результатов проведенных исследований, а также данных литературы (Stobart et al., 1985; Kačabova et al., 1986; Breskle, 1991; Siedleska, Baszynski, 1993; Siedleska, Krupa, 1999; Алёксева-Попова, 1987; Бессонова, 1991; Нестерова, 1991 и др.) можно

предположить, что в условиях наших экспериментов ингибирующее действие свинца и кадмия на рост и развитие однолетних злаков связано, во-первых, с непосредственным влиянием этих металлов на клеточное деление и растяжение (отмеченное нами замедление прорастания семян, очевидно, можно рассматривать как косвенное подтверждение правильности этого предположения), во-вторых, с их опосредованным действием, связанным, например, с дефицитом минерального питания, обусловленного задержкой роста корневой системы.

5. Влияние свинца и кадмия на листовой аппарат однолетних злаков

Одной из задач нашей работы было выяснение влияния различных концентраций свинца и кадмия на состояние и функциональную активность листового аппарата растений ячменя и овса. По мнению ряда авторов (Baszynski et al., 1980; Stiborova et al., 1986; Sheoran et al., 1990; Greger, Ögren, 1991; Horvath et al., 1996; Krupa, 1999), нарушения его деятельности могут являться еще одной из причин негативного действия тяжелых металлов на рост и развитие растений.

Влияние свинца и кадмия на один из важных параметров фотосинтетического аппарата — содержание зеленых пигментов — зависело от токсичности металла, его концентрации, а также от яруса листа (рис. 7).



Так, в присутствии ацетата свинца в концентрации 200 мг/кг в 1-ом листе отмечено небольшое увеличение содержания зеленых пигментов (на 10% по отношению к контролю), во 2-м листе этот показатель оставался на уровне контрольного варианта, а в 3-ем — уменьшался (на 18% по отношению к контролю). В присутствии ацетата кадмия стимулирующего эффекта не наблюдалось, количество хлорофилла при использовании концентрации 100 мг/кг в 1-ом и 2-ом листьях злаков оставалось на уровне контрольного варианта; а в 3-ем — отмечено некоторое его снижение (на 10% по отношению к контролю). С увеличением концентрации солей металлов (Pb — до 800 мг/кг, Cd — до 400 мг/кг) содержание зеленых пигментов во всех листьях злаков значительно уменьшалось (по сравнению с контрольным вариантом). Нами было также обнаружено, что как в контрольном, так и в опытных вариантах снижение содержания зеленых пигментов было выражено сильнее в 3-ем листе, по сравнению с 1-ым и 2-ым. Возможно, это связано с особенностью развития однолетних злаков, у которых именно в фазе 3-х листьев происходит временное снижение интенсивности всех основных физиологических процессов, в частности, фотосинтеза и дыхания листьев, сосущей силы клеток (Чельцова, 1980).

Проведенный анализ литературы дает нам возможность предполагать, что негативное влияние свинца и кадмия на содержание хлорофилла может быть связано с прямым подавлением этими металлами биосинтеза хлорофилла (Baszynski et al., 1980; Horvath et al., 1996; Siedleska, Krupa, 1996b и др.) или с деградацией хлоропластов (Bazzaz et al., 1974; Krupa, Baszynski, 1985).

Изучение интенсивности фотосинтеза и дыхания у растений ячменя и овса было проведено в фазе 2-х листьев. Исследования показали, что интенсивность фотосинтеза в зависимости от концентрации металлов также изменяется по-разному (рис. 8). Если в присутствии ацетата свинца в концентрации 200 мг/кг она увеличивалась и составила 120% по отношению к контрольному варианту, в концентрации соли свинца 400 мг/кг и кадмия — 100 и 200 мг/кг оставалась на уровне контроля, то при применении более высоких концентраций солей металлов (Pb — 800 мг/кг и Cd — 400 мг/кг) наблюдалось заметное (на 22% и 52%, соответственно) снижение этого показателя.

Стимулирующее действие низких концентраций металлов отмечалось и другими авторами, которые связывают его с активизацией общего метаболизма в растениях (Stiborova et al., 1986; Sheoran et al., 1990; Ernst et al., 1992; Kahle, 1993; Караваев, 2001). Однако, конкретные механизмы этого явления пока не известны. Ингибирующий эффект высоких кон-

153577K

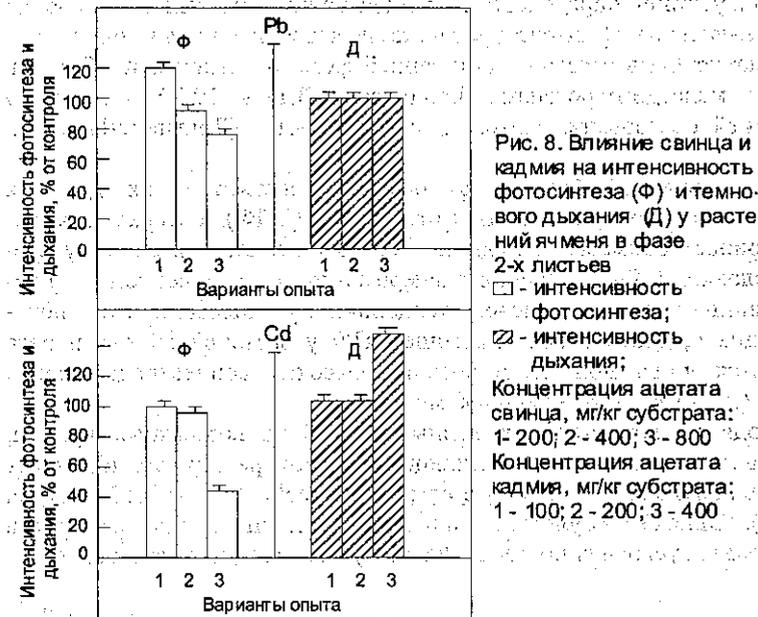


Рис. 8. Влияние свинца и кадмия на интенсивность фотосинтеза (Ф) и темного дыхания (Д) у растений ячменя в фазе 2-х листьев
 □ - интенсивность фотосинтеза;
 ▨ - интенсивность дыхания;
 Концентрация ацетата свинца, мг/кг субстрата: 1- 200; 2- 400; 3- 800
 Концентрация ацетата кадмия, мг/кг субстрата: 1- 100; 2- 200; 3- 400

центраций тяжелых металлов на интенсивность фотосинтеза, по мнению ряда исследователей, может быть связан с общим подавлением роста растений (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1984), с нарушением биосинтеза хлорофилла (Tukendorf, Baszynski, 1991), а также с ингибированием активности ферментов цикла Кальвина, в частности, рибулозодифосфат-карбоксилазы (Siedleska, Krupa, 1999).

В наших опытах интенсивность темного дыхания с увеличением концентрации уксуснокислого свинца до 800 мг/кг и кадмия — до 200 мг/кг оставалась на уровне контрольного варианта, и лишь в присутствии ацетата кадмия в концентрации 400 мг/кг наблюдалось статистически значимое повышение этого параметра. По мнению многих исследователей (Семихатова, 1995; Головки, 1999; Рахманкулова, 2002), в стрессовых условиях возможна активация темного дыхания, что связано с увеличением одной из его функциональных составляющих — дыхания поддержания. О.А. Семихатова (1995) считает, что повышение дыхания в неблагоприятных условиях свидетельствует о том, что растения находятся в состоянии стресса, в "борьбе" с которым неизбежно увеличение дыхательных затрат. Конкретные причины повышения темного дыха-

ния в присутствии определенных концентраций тяжелых металлов до конца не выяснены. В литературе высказываются предположения о том, что это может быть связано с активацией ферментов цикла Кребса и, в частности, малатдегидрогеназы (Lamogeaux, Chaney, 1978), а также со стимуляцией образования митохондриальной АТФ (Romanowska et al., 2002).

Результирующей баланса фотосинтеза листьев и их дыхания является чистая продуктивность фотосинтеза (ЧПФ), которая характеризует прирост биомассы на единицу площади листьев в единицу времени (Головкин, 1999). В наших экспериментах с увеличением концентрации свинца и кадмия отмечена тенденция к уменьшению этого показателя, однако, достоверное снижение ЧПФ у растений ячменя и овса наблюдается лишь при использовании высоких концентраций солей металлов (Pb – 800 мг/кг и Cd – 400 мг/кг):

Исходя из литературных данных, одной из возможных причин, вызывающих изменения в ассимиляционном аппарате растений, может выступать нарушение их водного режима (Barcelo et al., 1986; Kestory et al., 1992). Однако, результаты наших экспериментов, проведенных в вегетационных условиях показали (табл. 2), что оводненность тканей

Таблица 2
Влияние свинца и кадмия на оводненность тканей листьев ячменя

Концентрация солей металлов, мг/кг субстрата	Содержание воды в тканях листьев, %		
	1-ый лист	2-ой лист	3-ий лист
Pb 0	87±0,6	89±1,4	89±0,8
200	87±1,3	89±1,5	89±0,8
400	86±1,2	89±1,8	88±0,9
800	85±1,1	88±0,9	87±0,8
Cd 0	88±0,2	86±0,1	86±0,2
100	88±0,3	85±0,2	85±0,3
200	86±0,6	83±0,7	85±0,8
400	82±0,5	82±0,7	84±0,1

1-го, 2-го и 3-го листьев ячменя и овса в присутствии свинца и кадмия практически не изменяется и остается на уровне близком к контрольному варианту даже при использовании высоких концентраций металлов. По мнению Барсело и Пошенридера (Barcelo, Poshenrieder, 1990), такого рода

результаты могут быть объяснены тем, что при действии тяжелых металлов вместе со снижением всасывания снижаются и темпы транспирации, поэтому общий водный баланс растений изменяется незначительно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные нами исследования позволили выявить определенные закономерности в изменении устойчивости однолетних злаков к повышенному содержанию тяжелых металлов в среде в зависимости от токсичности металла, его концентрации, а также от фазы развития растений. Результаты экспериментов не только подтвердили мнение многих исследователей о более высокой токсичности кадмия, по сравнению со свинцом, но и позволили обнаружить ряд других, ранее не упоминавшихся в литературе фактов, связанных с негативным влиянием свинца и кадмия на рост и развитие растений.

Нами было выявлено, что тяжелые металлы в изученных концентрациях замедляют процесс прорастания семян однолетних злаков, однако на всхожесть семян отрицательное влияние оказывают только высокие концентрации ацетата кадмия (800 и 1000 мг/кг субстрата).

В своих опытах мы наблюдали два типа ответной реакции однолетних злаков на действие тяжелых металлов в зависимости от их концентрации в корнеобитаемой среде. 1) В присутствии ацетата свинца в концентрациях 200-1000 мг/кг и кадмия – 100-600 мг/кг субстрата у ячменя и овса отмечается значительное уменьшение (по отношению к контролю) всех ростовых показателей, замедление темпов органогенеза злаков. Однако, процесс закладки и формирования новых органов не нарушается. Более того, по мере развития растений наблюдается постепенное восстановление большинства изученных ростовых параметров, что, очевидно, связано с работой механизмов детоксикации металлов. На фоне уменьшения ростовых показателей и замедления развития в указанном диапазоне концентраций нами было отмечено снижение содержания зеленых пигментов в листьях злаков. Вместе с тем, значительных изменений в интенсивности протекания основных продукционных и энергетических процессов – фотосинтеза и дыхания – не было обнаружено, за исключением использования ацетата кадмия в концентрации 400 мг/кг. Практически не изменяется и оводненность тканей листьев. Очевидно, при действии отмеченных концентраций свинца и кадмия в растениях однолетних злаков сохраняется согласованность основных метаболических процессов, что обеспечивает возможность их роста и развития в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в окружающей среде.

2) В присутствии ацетата кадмия в высоких концентрациях (800 и 1000 мг/кг субстрата) рост и развитие однолетних злаков останавливаются уже на начальных этапах онтогенеза, закладки и формирования новых органов не происходит. Возможно, при воздействии таких высоких концентраций нарушается процесс избирательного поглощения ионов, поток токсичных ионов кадмия беспрепятственно поступает в растения, и механизмы детоксикации уже не могут справиться с ним. В результате останавливается деление клеток, наблюдается рассогласование основных физиологических процессов, вследствие чего, очевидно, происходит перераспределение пластических и энергетических ресурсов в растении. В результате рост и развитие злаков прекращаются и в дальнейшем наступает их гибель.

В целом, отрицательное влияние свинца и кадмия на рост и развитие растений ячменя и овса обусловлено комплексом физиологических изменений, главными из которых, в условиях наших опытов, являлись: замедление роста корневой системы, что приводит к нарушению минерального питания, и изменение функционирования листового аппарата, связанное с уменьшением количества зеленых пигментов. Вместе с тем, в результате действия различных защитно-приспособительных механизмов растения ячменя и овса способны развиваться в присутствии достаточно высоких концентраций свинца и кадмия в корнеобитаемой среде, что свидетельствует об их металлоустойчивости.

ВЫВОДЫ

1. Семена однолетних злаков — ячменя обыкновенного и овса посевного — обладают высокой металлоустойчивостью; благодаря которой они способны сохранять почти 100%-ную всхожесть даже при достаточно высоких концентрациях свинца (до 1000 мг/кг субстрата) и кадмия (до 600 мг/кг субстрата) в корнеобитаемой среде (применяемых в форме уксуснокислых солей).

2. Увеличение концентрации ионов свинца и кадмия в корнеобитаемой среде приводит к торможению роста однолетних злаков, которое прослеживается по всем основным ростовым показателям, причем в наибольшей степени по таким из них, как длина корня и накопление его биомассы.

3. В процессе развития однолетних злаков (с момента прорастания семян до фазы 3-х настоящих листьев) ингибирующее действие уксусно-

кислого свинца, применяемого в концентрациях 200-1000 мг/кг субстрата и кадмия, применяемого в концентрациях 100-600 мг/кг субстрата, на рост растений (при их одноразовом внесении в субстрат) ослабевает. Более высокие концентрации кадмия (≥ 800 мг/кг субстрата) приводят к полной остановке роста злаков на фазе проростков и последующей их гибели.

4. Ионы свинца и кадмия оказывают ингибирующее действие на рост и дифференциацию апикальных меристем стебля ячменя и овса, а также на темпы органогенеза однолетних злаков, что обнаруживается с помощью морфофизиологического метода уже на ранних этапах онтогенеза. Это позволяет рекомендовать применение данного метода и таких показателей, как размеры и степень дифференциации конуса нарастания в качестве критериев при экспресс-диагностике металлоустойчивости злаков.

5. Ионы свинца в невысоких концентрациях (≤ 200 мг/кг субстрата) способны оказывать положительное действие на содержание в листьях ячменя и овса хлорофилла и на интенсивность фотосинтеза. Более высокие концентрации свинца (≥ 800 мг/кг субстрата) и кадмия (≥ 400 мг/кг субстрата) приводят к заметному ингибированию скорости фотосинтеза и снижению содержания хлорофилла. Интенсивность темнового дыхания повышается только в присутствии кадмия в концентрации 400 мг/кг субстрата, тогда как оводненность тканей листьев под влиянием всех изученных концентраций свинца и кадмия достоверно не изменяется.

6. В целом, анализ полученных результатов позволяет говорить о высокой устойчивости изученных видов однолетних злаков к избытку свинца и кадмия в корнеобитаемой среде. Однако, в количественном отношении по ряду показателей роста и развития овса оказался более металлоустойчивым, чем ячмень.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф. Использование морфофизиологического метода для диагностики металлоустойчивости растений // Материалы международной молодежной научной школы «Биоиндикация-98». Петрозаводск, 1998. С. 112-114.
2. Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М., Титов А.Ф. Влияние ионов свинца на рост и развитие растений *Hordeum vulgare* L. // Тез. докл. IV Межд. Конф.

- «Освоение Севера и проблемы природовосстановления». Сыктывкар, 1998. С. 62-63.
3. Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М., Титов А.Ф. Влияние ионов свинца на продуктивность однолетних злаков // Тез. докл. IV съезда Общества физиологов растений России. Межд. конф. Москва, 1999. С. 404.
4. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф., Шibaева Н.А. Влияние ионов свинца на рост и развитие растений *Avena sativa* L. // Тез. докл. Межд. конф. «Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Фенноскандии». Петрозаводск, 1999. С. 26-27.
5. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф. Влияние ионов свинца на некоторые морфофизиологические показатели *Hordeum vulgare* L. // Материалы VII республиканской научно-практической конф. «Физиолого-биохимические и генетические основы устойчивости и продуктивности растений». Алматы, 1999. С. 32-33.
6. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф., Шibaева Н.А. Влияние ионов кадмия на рост и развитие растений ячменя // Тез. докл. Всероссийской молодежной научной конф. «Растение и почва». Проблемы агрохимии, агрофизики и фитофизиологии. Санкт-Петербург, 1999. С. 97-98.
7. Казнина Н.М., Шibaева Н.А., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф. Влияние ионов свинца и кадмия на некоторые физиологические показатели растений овса // Тез. докл. VII конф. молодых ученых «Проблемы физиологии растений и генетики на рубеже третьего тысячелетия». Киев, 2000. С. 49.
8. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф. Влияние ионов свинца и кадмия на апикальные меристемы стебля ячменя // Тез. докл. VII Молодежной конф. ботаников в Санкт-Петербурге. Санкт-Петербург, 2000. С. 118.
9. Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М. Влияние ионов свинца на рост и морфофизиологические показатели растений ячменя и овса // Физиология и биохимия культ. растений. 2001. Т. 33, № 5. С. 387-393.
10. Казнина Н.М. Морфофизиологические изменения стеблевых апикальных меристем однолетних злаков, вызванные действием ионов свинца // Тез. докл. Межд. конф. «Актуальные вопросы экологической физиологии растений в XXI веке». Сыктывкар, 2001. С. 241-241.
11. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф., Шibaева Н.А. Изменение морфологических показателей *Avena sativa* L. под действием кадмия // Тез. докл. Межд. конф. «Проблемы сохранения биоразнообразия в наземных и морских экосистемах Севера». Апатиты, 2001. С. 87.

12. Казнина Н.М. Использование морфофизиологических показателей для оценки состояния растений ячменя в условиях избытка кадмия // Материалы межд. конф. молодых ученых, посвященной 185-летию Харьковского государственного Аграрного университета им. В.В. Докучаева «Растения и среда». Харьков, 2001. С. 31-32.
13. Шibaева Н.А., Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М., Титов А.Ф. Устойчивость однолетних злаков к загрязнению кадмием // Материалы междунаучной конф. «Биологические ресурсы и устойчивое развитие». Пушино, 2001. С. 251.
14. Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М., Титов А.Ф., Шibaева Н.А. Влияние ионов кадмия на ассимиляционный аппарат растений ячменя // Материалы межд. конф. «Регуляция роста, развития и продуктивности растений». Минск, 2001. С. 16.
15. Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М., Шibaева Н.А., Титов А.Ф. Влияние ионов кадмия на ростовые показатели и содержание пигментов у растений *Avena sativa* L. // Тез. докл. научной конф., посвященной 10-летию РФФИ. Петрозаводск, 2002. С. 34-35.
16. Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М. Влияние высоких концентраций кадмия на рост и развитие ячменя и овса на ранних этапах онтогенеза // Агрохимия. 2002. № 9. С. 61-65.
17. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф. Устойчивость стеблевых апикальных меристем ячменя к действию кадмия // Тез. докл. II Межд. конф. по анатомии и морфологии растений. Санкт-Петербург, 2002. С. 231-232.