

УДК 581.1

РОСТ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ И НАКОПЛЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРИ КРАТКО- И ДОЛГОСРОЧНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КАДМИЯ

© 2013 г. А. А. Клаус, Е. А. Лысенко, В. П. Холодова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

Поступила в редакцию 09.12.2011 г.

Используя широкий диапазон концентраций Cd (от 4 мкМ до 200 мкМ для проростков и до 2 мМ для прорастающих зерновок), оценили его токсический эффект на растения кукурузы (*Zea mays* L.) на стадиях прорастающих зерновок, проростков (4–9 дней) и ювенильных растений (34 дня), проследили за накоплением Cd в отдельных органах растений и нашли его летальную концентрацию. У кукурузы кадмий накапливался преимущественно в корнях; в побеге – преимущественно в нижних листьях, и чем выше ярус, тем меньше в нем содержание кадмия. При высоких концентрациях (80 и 200 мкМ) существенным депо кадмия становилась зерновка, из которой вырос проросток. Наименьшую чувствительность к кадмию демонстрировали прорастающие зерновки, более высокую – проростки, ингибирование роста ювенильных растений достигало 90% и более. В изученном диапазоне концентраций кадмий сильнее ингибировал накопление массы в побегах, чем в корнях. У 34-дневных растений оводненность побега снижалась сильнее, чем оводненность корней. Гибель растений также начиналась с побега. Сделаны выводы о том, что по мере роста чувствительность растений кукурузы к кадмию увеличивается, и что в условиях нормального минерального питания кадмий ингибирует рост побега сильнее, чем рост корня.

Ключевые слова: *Zea mays* – кадмий – накопление – распределение по органам – стресс

DOI: 10.7868/S0015330313020115

ВВЕДЕНИЕ

Кадмий является одним из самых токсичных тяжелых металлов (ТМ). В результате хозяйственной деятельности человека довольно большие территории подверглись загрязнению кадмием [1]. Кадмий ингибирует активность ряда ферментов, нарушает процессы дыхания и фотосинтеза, деления клеток, угнетает рост и развитие растений [2–4]. Основная стратегия адаптации растений к ТМ, в том числе к кадмию, заключается в ограничении их поступления в метаболически активные компартменты клетки. Растения связывают ионы кадмия полисахаридами клеточной стенки, а транспортированные через плазмалемму ионы кадмия направляют в вакуоль [2, 4]. В детоксикации внутриклеточного кадмия принимают участие фитохелатины, металлотионеины,

амино- и органические кислоты [2, 4]; некоторые растения выводят кадмий в трихомы [5, 6].

По отношению к ТМ все растения подразделяют на три группы: исключатели, накопители и индикаторы [7, 8]. Исключатели задерживают поступление ТМ в побег и накапливают их в основном в корнях. Накопители, напротив, накапливают ТМ преимущественно в надземной части. У индикаторов содержание ТМ в корнях и побегах сходно и отражает содержание металлов в почве. В отношении других защитных механизмов следует отметить, что растения демонстрируют большое разнообразие способов их применения. Поэтому они довольно сильно различаются между собой по накоплению ТМ (и кадмия, в частности), устойчивости и проявлению токсических эффектов, в том числе значительные различия наблюдаются даже среди сортов одного вида растений [9, 10].

Кукуруза является важной сельскохозяйственной культурой и модельным объектом для лабораторных исследований. Установлено, что кукуруза является растением-исключателем [11–14]. Кукуруза и злаки в целом более устойчивы к воз-

Сокращения: Кар – каротиноиды; ТМ – тяжелые металлы; Хл – хлорофилл.

Адрес для корреспонденции: Лысенко Евгений Анатольевич. 127276 Москва, Ботаническая ул., 35. Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Факс: 007 (499) 977-80-18; электронная почта: genlysenko@mail.ru

Таблица 1. Влияние Cd²⁺ на прорастание зерновок кукурузы

Параметр	Контроль	Концентрация Cd, мкМ						
		4	20	80	200	500	1000	2000
Наклюнувшиеся зерновки, %	94.4	94.4	90.0	86.7	93.3	93.3	93.3	93.3
Проросшие зерновки, %	77.8	76.7	72.2	71.1	75.3	76.7	78.9	65.2
Длина корня у проросших зерновок, см	12.5 ± 0.8 ^a	12.1 ± 0.8 ^a	11.3 ± 0.8 ^a	11.6 ± 0.8 ^a	10.9 ± 0.7 ^a	9.2 ± 0.5 ^b	7.9 ± 0.4 ^b	5.7 ± 0.4 ^г

Примечание. Состав среды в контроле (здесь и в других таблицах) приведен в разделе МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Зерновки проращивали в течение трех суток. Разными буквами при цифрах отмечены группы значений, различия между которыми достоверны ($\alpha < 0.05$). Приведены средние величины ± стандартная ошибка (SE). Наклюнувшимися считали зерновки с появившимся корнем (не менее 1 мм), проросшими – с корнем >5 мм.

действию кадмия, чем многие виды двудольных растений [15], но менее устойчивы, чем обнаруженные среди двудольных растения-гипераккумуляторы [16–18].

Нами была поставлена задача изучить (в единичных условиях эксперимента), каким образом происходит накопление кадмия и проявляется его токсическое действие в процессе роста молодых растений кукурузы. Для этого был использован широкий диапазон концентраций Cd, дана оценка его физиологического эффекта на прорастающие зерновки, проростки и ювенильные растения и прослежено его накопление в отдельных органах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали кукурузу (*Zea mays* L.) сорта Лучистая. Растения выращивали при температуре 25°C, фотопериоде 12 ч и интенсивности освещения 100–120 мкмоль фотонов/(м² с), в сосудах емкостью 1.2 л при постоянном аэрировании на модифицированной среде Хогланда следующего состава: 3 мМ KNO₃, 2 мМ Ca(NO₃)₂, 1 мМ NH₄H₂PO₄, 1 мМ FeSO₄, 0.5 мМ MgSO₄, 25 мкМ H₃BO₃, 2 мкМ ZnSO₄, 2 мкМ MnSO₄, 1 мкМ KCl, 0.1 мкМ CuSO₄, 0.1 мкМ (NH₄)₆Mo₇O₂₄, 2 мМ Mes, pH 6.5. Кадмий вносили как CdSO₄. В питательную среду контрольных растений кадмий не добавляли. В течение одной недели в одном сосуде выращивали обычно 13–15 проростков (изредка от 6 до 21), в течение пяти недель – 4–5 растений. Среды меняли раз в неделю. По окончании эксперимента сосуды отмывали 3–5 мин проточной водой с применением моющего средства, однако это не избавляло полностью от загрязнения кадмием и заметного количества Cd в контрольных растениях (см. табл. 7). В дальнейшем, при использовании слабых растворов ЭДТА или HCl и продолжительной (8–16 ч) десорбции Cd, была достиг-

нута полная очистка сосудов, и содержание кадмия в контрольных растениях становилось минимальным.

В каждом сосуде растения анализировали или индивидуально, или формировали объединенную выборку из соответствующих органов всех растений.

Все эксперименты повторяли как минимум трижды; при большой вариабельности признака число независимых экспериментов достигало 10–12. При длительном выращивании растений проводили один эксперимент в мае и два в июле–августе.

Были использованы разные схемы постановки эксперимента, однако возраст проростков и растений всегда определяли с момента начала прорастания при 25°C.

Схема 1. При изучении влияния кадмия на прорастание зерновок кукурузы их сначала погружали на 30 мин в раствор Хогланда, затем выдерживали в течение 2 дней при 4°C в чашках Петри с раствором Хогланда, содержащим соответствующую концентрацию кадмия, размещая на одной чашке 15 зерновок в 15 мл раствора. Набухшие зерновки переносили в камеру для выращивания растений и проращивали 3 дня в тех же растворах, но при 25°C и освещении.

Схема 2. Для оценки влияния кадмия на рост растений использовали другую схему проращивания. Зерновки кукурузы погружали на 30 мин в раствор 0.25 мМ CaCl₂ и затем выдерживали в течение 2 дней при 4°C в темноте на фильтровальной бумаге, увлажненной 0.25 мМ CaCl₂. Набухшие зерновки проращивали 2 дня в тех же условиях, но при 25°C. Проросшие зерновки переносили на сосуды для выращивания растений, содержащие среду Хогланда; кадмий добавляли спустя сутки. В дальнейшем анализировали: 4–9 дневные проростки (1–6 суток роста на кадмии), и 34-дневные растения (31 день роста на кадмии). Гибель проростков в присутствии 250 мкМ Cd регистрирова-

Таблица 2. Токсический эффект кадмия и его накопление у 9-дневных проростков кукурузы (6 дней на среде с кадмием)

Параметр		Контроль	Концентрация Cd, мкМ				
			4	20	80	200	
Высота растений, см		16.1 ± 0.27 ^a	15.1 ± 0.26 ^b	12.0 ± 0.25 ^b	10.7 ± 0.16 ^г	7.5 ± 0.16 ^д	
Длина Л2, см		10.4 ± 0.23 ^a	9.5 ± 0.24 ^b	7.3 ± 0.20 ^b	6.9 ± 0.15 ^b	4.8 ± 0.18 ^г	
Площадь Л2, см ²		8.8 ± 0.27 ^a	7.7 ± 0.25 ^b	5.6 ± 0.22 ^b	5.0 ± 0.15 ^г	3.0 ± 0.16 ^д	
Сухая масса Л2, мг		9.7 ± 0.44 ^a	9.8 ± 0.47 ^a	6.7 ± 0.31 ^b	6.1 ± 0.30 ^b	3.4 ± 0.48 ^b	
Сухая масса побега, мг		36.7 ± 1.90 ^a	35.4 ± 1.10 ^a	—	28.4 ± 0.76 ^b	—	
Сухая масса корней, мг		12.2 ± 0.32 ^a	12.5 ± 0.48 ^a	12.1 ± 0.56 ^a	12.0 ± 0.22 ^a	8.1 ± 0.48 ^b	
Оводненность, %	весь побег	93.3 ± 0.07 ^a	93.0 ± 0.07 ^b	—	91.4 ± 0.16 ^b	—	
	Л2	92.3 ± 0.13 ^a	92.3 ± 0.21 ^a	91.5 ± 0.19 ^b	90.7 ± 0.29 ^b	89.0 ± 0.50 ^г	
	корни	95.0 ± 0.10 ^a	95.0 ± 0.13 ^a	94.4 ± 0.18 ^b	93.5 ± 0.17 ^b	91.0 ± 0.37 ^г	
Пигменты Л2, мкг/г свежей массы, и их соотношение	Хл <i>a</i>	1609 ± 25 ^a	1510 ± 29 ^b	1446 ± 25 ^b	1356 ± 26 ^b	1292 ± 22 ^b	
	Хл <i>b</i>	412 ± 9 ^a	408 ± 10 ^a	380 ± 7 ^b	372 ± 8 ^b	368 ± 8 ^b	
	Кар	247 ± 5.0 ^a	240 ± 4.6 ^a	234 ± 3.7 ^{ab}	226 ± 4.3 ^b	228 ± 4.4 ^b	
	Хл <i>a/b</i>	3.9 ± 0.03 ^a	3.8 ± 0.05 ^{ab}	3.9 ± 0.03 ^a	3.8 ± 0.02 ^b	3.5 ± 0.05 ^b	
	Хл/Кар	8.22 ± 0.07 ^a	8.14 ± 0.05 ^a	7.89 ± 0.07 ^b	7.82 ± 0.04 ^b	7.31 ± 0.06 ^b	
Накопление Cd	мкг/г сухой массы	Л2	10.6 ± 4.6 ^a	87 ± 9 ^b	117 ± 16 ^b	337 ± 29 ^b	430 ± 37 ^b
		корни	52 ± 16 ^a	1240 ± 80 ^b	2320 ± 32 ^b	4496 ± 233 ^г	9306 ± 519 ^д
		корни/Л2	4.9	14.2	19.9	13.3	21.6
	одним растением, мкг	весь побег	2.4 ± 1.1 ^a	41.2 ± 1.6 ^b	—	60.7 ± 7.1 ^b	—
		корни	7.3 ± 4.1 ^a	80 ± 8 ^b	—	283 ± 19 ^b	—
	корни/побег	3.1 ± 3.0 ^a	2.0 ± 0.4 ^a	—	4.7 ± 1.4 ^a	—	

Примечание. Л2 – второй лист. Приведены средние величины ± SE. Разными буквами при цифрах отмечены группы значений, различия между которыми достоверны ($\alpha < 0.05$). Прочерк означает, что измерения не проводили.

ли до возраста 34 дня (31 день в присутствии кадмия). В этом случае использовали две разные соли кадмия – сульфат или хлорид. Погибшими считали те растения, у которых надземная часть полностью высохла и утратила зеленые участки тканей.

Высоту растений определяли как расстояние от зерновки до самой высокой точки побега. Площадь листовой пластинки определяли по формуле $S = 2/3 Ld$, где S – площадь листа, L – длина листовой пластинки, d – ширина в средней части листовой пластинки [19].

Для определения содержания фотосинтетических пигментов вырезали фрагмент листа длиной 1 см. У 9-дневных растений удаляли 1-сантиметровый участок от кончика листа и использовали следующий за ним участок; у 34-дневных растений брали фрагмент из середины листовой пластинки. Пигменты экстрагировали 80% ацетоном, и определяли концентрацию хлорофиллов *a*, *b* (Хл *a* и Хл *b*) и каротиноидов (Кар) по формулам, приведенным в работе [20].

Для определения оводненности и содержания кадмия ткани высушивали при температуре 60°C

в течение ночи. Корни предварительно отмывали в дистиллированной воде в течение 10 мин, как в работах [5, 9, 15]. Высушенные навески (50–100 мкг) инкубировали в течение ночи в растворе, состоящем из 1.5 мл 64% азотной кислоты и 0.6 мл 65% хлорной кислоты. На следующий день пробы прогревали 1.5 ч при 150°C, затем 2 ч при 180°C, далее в пробы вносили по 50 мкл концентрированной перекиси водорода и оставляли на ночь. После этого пробы доводили до конечного объема (10 мл) дистиллированной водой. Концентрацию кадмия определяли на атомно-адсорбционном спектрофотометре Formula FM400 (“Лабист”, Россия).

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Excel (Microsoft). Достоверность различий средних величин определяли по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование было начато с изучения влияния кадмия на прорастание зерновок (табл. 1). Ингибирование прорастания семян наблюдали

Таблица 3. Влияние кадмия на рост и содержание фотосинтетических пигментов у растений кукурузы к 34 дню развития (31 день на среде с кадмием)

Параметр			Контроль	Концентрация Cd, мкМ		
				20	80	200
Высота растения, см			82.0 ± 1.00 ^a	36.3 ± 1.96 ^б	28.5 ± 1.47 ^B	17.0 ± 1.83 ^Г
Среднее число листьев, шт.			7.7 ± 0.36 ^a	6.4 ± 0.19 ^б	5.4 ± 0.31 ^B	4.6 ± 0.33 ^B
Сухая масса побега, мг			1685 ± 15 ^a	273 ± 42 ^б	169 ± 37 ^{бв}	85 ± 14 ^B
Сухая масса корня, мг			226 ± 86.1 ^a	62.3 ± 13.9 ^a	40.1 ± 12.2 ^{аб}	18.7 ± 7.9 ^б
Сухая масса зерновки, мг			206 ± 5.5 ^{аб}	186 ± 13.9 ^a	207 ± 5.3 ^{аб}	239 ± 13.1 ^б
Пигменты, мкг/г свежей массы, и их соотношение	Хл <i>a</i>	Л4	1344 ± 67 ^a	519 ± 65 ^б	617 ± 35 ^б	1086 ± 40 ^B
		Л5	1364 ± 51 ^a	489 ± 18 ^б	709 ± 37 ^B	854 ± 41 ^Г
	Хл <i>b</i>	Л4	343 ± 14 ^a	180 ± 24 ^б	194 ± 12 ^б	367 ± 25 ^a
		Л5	341 ± 11 ^a	152 ± 6 ^б	228 ± 18 ^B	355 ± 17 ^a
	Кар	Л4	174 ± 12 ^a	96 ± 8 ^б	117 ± 6 ^б	213 ± 12 ^a
		Л5	179 ± 11 ^a	91 ± 5 ^б	124 ± 8 ^B	186 ± 14 ^a
	Хл <i>a/b</i>	Л4	3.9 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.1 ^б	3.2 ± 0.1 ^B	3.0 ± 0.2 ^{бв}
		Л5	4.0 ± 0 ^a	3.2 ± 0.1 ^б	3.2 ± 0.2 ^б	2.4 ± 0.1 ^B
	Хл/Кар	Л4	9.8 ± 0.3 ^a	7.2 ± 0.4 ^б	7.0 ± 0.2 ^б	6.8 ± 0.1 ^б
		Л5	9.6 ± 0.3 ^a	7.1 ± 0.3 ^{бв}	7.6 ± 0.2 ^б	6.6 ± 0.3 ^B

Примечание. Л4 – четвертый лист, Л5 – пятый лист. Приведены средние величины ± SE. Разными буквами при цифрах отмечены группы значений, различия между которыми достоверны ($\alpha < 0.05$).

Таблица 4. Оводненность (%) различных органов 34-дневных растений кукурузы (31 день на среде с кадмием)

Орган		Контроль	Концентрация Cd, мкМ		
			20	80	200
Лист	8	88.0 ± 1.02			
	7	84.3 ± 3.34	88.5 ± 0.33		
	6	88.3 ± 0.59	89.6 ± 0.48	87.8 ± 0.23	87.9 ^{**}
	5	88.8 ± 0.81	90.8 ± 0.51	88.4 ± 0.56	84.7 ± 1.82
	4	88.9 ± 0.65	90.4 ± 0.32	87.3 ± 1.06	82.9 ± 3.18
	3	55.7 ± 10.53	87.4 ± 2.26 ^{***}	70.2 ± 6.06	80.7 ± 0.80
	1 + 2	24.8 ± 15.18	81.1 ± 0.88 ^{***}	33.2 ± 16.02	31.5 ± 18.24
Стебель*		91.1 ± 1.53	90.2 ± 1.27	86.3 ± 2.99	83.5 ± 3.33
Весь побег		89.3 ± 0.36	89.6 ± 0.78	85.2 ± 1.26 ^{***}	81.5 ± 2.46 ^{***}
Зерновка		18.0 ± 6.62	15.7 ± 1.56	14.9 ± 9.89	16.2 ± 2.64
Корень		93.7 ± 1.50	93.6 ± 0.37	92.6 ± 0.49	90.5 ± 1.15

Примечание. Приведены средние величины ± SE. Листья растений пронумерованы в порядке их появления, соответственно, от нижних к верхним. Пустая ячейка означает, что лист данного яруса отсутствовал у всех или у большинства растений.

* Стебель с влагалищами листьев.

** Листья данного яруса были обнаружены только в одном эксперименте.

*** Отличие от контроля достоверно ($\alpha < 0.05$).

только при наибольшей из использованных концентраций – 2 мМ Cd. Ингибирование роста корня становилось достоверным, начиная с концентрации кадмия 500 мкМ, и усиливалось с дальнейшим ростом его концентрации.

Затем был исследован самый ранний этап развития побега (листья анализировали с момента их появления). Кадмий в концентрации 80 мкМ достоверно подавлял рост побега, начиная с возраста 5–6 суток (рис. 1а). Достоверное снижение со-

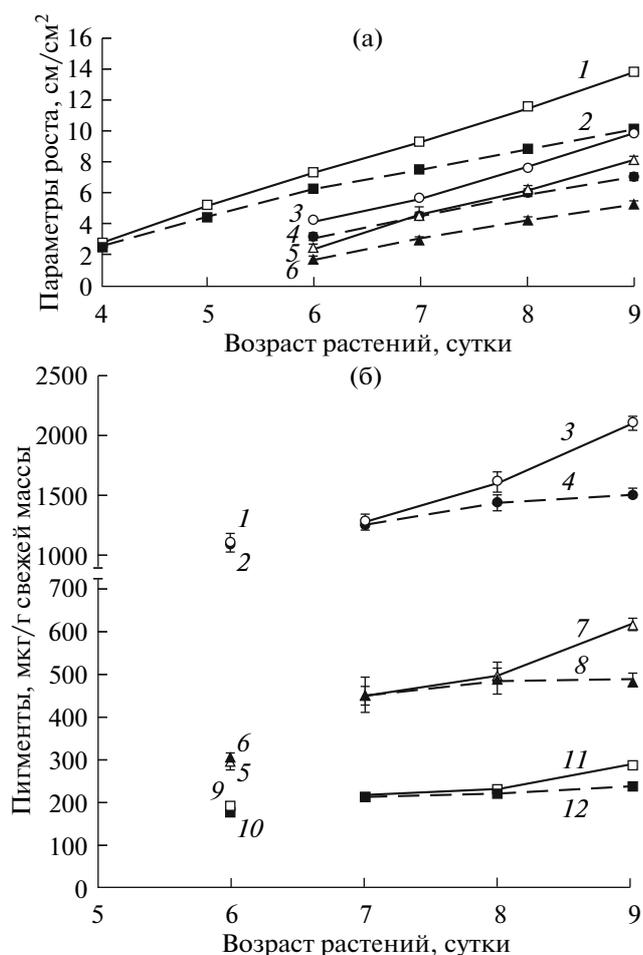


Рис. 1. Динамика влияния 80 мкМ CdSO₄ на рост (а) и содержание фотосинтетических пигментов (б) у ювенильных проростков кукурузы (4–9 суток с начала прорастания).

Кадмий вносили после 3 суток прорастания зерновок. В течение четвертых суток происходил прорыв coleoptили первым листом. а. высота побега: 1 – контроль, 2 – кадмий; длина второго листа: 3 – контроль, 4 – кадмий; площадь второго листа: 5 – контроль, 6 – кадмий. б. содержание хлорофилла *a*: в первом листе 1 – контроль, 2 – кадмий; содержание хлорофилла *b*: в первом листе 5 – контроль, 6 – кадмий; во втором листе: 7 – контроль, 8 – кадмий; содержание каротиноидов: в первом листе 9 – контроль, 10 – кадмий; во втором листе 11 – контроль, 12 – кадмий.

держания Хл *a* под влиянием кадмия было обнаружено у 8-дневных проростков, а на содержание Хл *b* и Кар – только у 9-дневных (рис. 1б). Соотношение Хл *a* и Хл *b* немного изменялось по мере роста проростков, но кадмий не оказывал влияния на этот процесс (данные не приведены).

Повышенное содержание кадмия было обнаружено в побеге уже через сутки после его внесения в среду выращивания, и в дальнейшем его содержание увеличивалось (рис. 2). На этом этапе рост побега и накопление кадмия оказались свя-

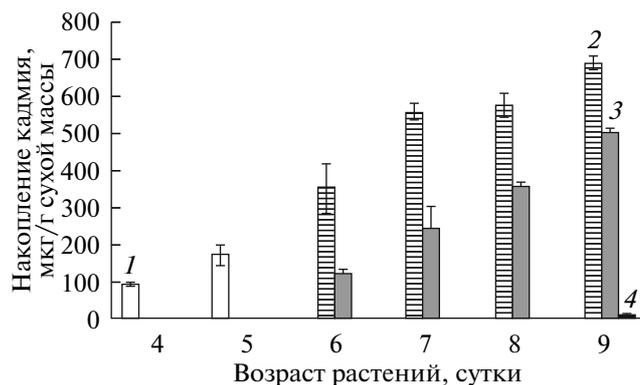


Рис. 2. Динамика накопления кадмия в побеге ювенильных проростков кукурузы, выращенных на среде с 80 мкМ CdSO₄.

1 – в побеге целиком, 2 – в первом листе, 3 – во втором листе, 4 – во втором листе контрольного варианта (без внесения CdSO₄).

заны прямой линейной зависимостью. Связь высоты побега и содержания кадмия в нем аппроксимируется формулой $y = 0.0148x + 1.8229$ ($R^2 = 0.96$), связь длины и площади второго листа с содержанием в нем кадмия аппроксимируется формулами $y = 0.0108x + 1.8582$ ($R^2 = 0.99$) и $y = 0.0093x + 0.6894$ ($R^2 = 0.99$) соответственно.

Поскольку влияние кадмия на все изученные параметры становилось достоверным к девятому дню развития проростков, этот возраст был выбран для анализа концентрационной зависимости его воздействия.

Линейные параметры роста и площадь второго листа 9-дневных проростков достоверно снижались при внесении в среду уже минимальной из использованных концентраций – 4 мкМ CdSO₄ (табл. 2). Для большинства показателей роста степень ингибирования нарастала с увеличением концентрации кадмия в среде. Исключением явилась только сухая масса корней, которая достоверно не изменялась вплоть до концентрации 80 мкМ. Накопление массы надземными частями проростков ингибировалось сильнее, чем в корнях (рис. 3а). Оводненность тканей второго листа и корней достоверно уменьшалась, начиная с 20 мкМ Cd (табл. 2). В пуле фотосинтетических пигментов сильнее всего снижался уровень Хл *a*, меньше всего – Кар (табл. 2, рис. 3б). Соотношение Хл *a*/Хл *b* менялось слабо; соотношение Хл/Кар уменьшалось с увеличением концентрации кадмия в питательном растворе (табл. 2).

Кадмий преимущественно накапливался в корнях (табл. 2). В корнях зависимость накопления кадмия от концентрации катиона в среде имела практически линейный характер ($y = 42.828x + 878.98$; $R^2 = 0.98$). Во втором листе эта

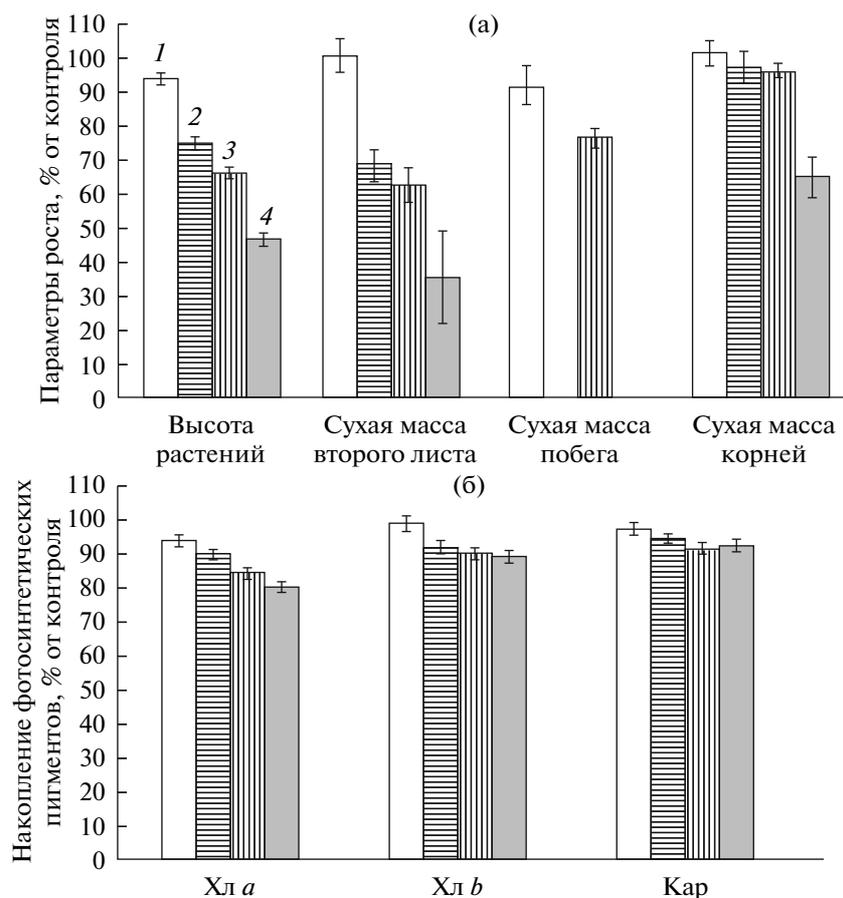


Рис. 3. Влияние кадмия на рост (а) и на содержание фотосинтетических пигментов во втором листе (б) проростков кукурузы к девятому дню развития (6 дней на среде с кадмием).

1 – 4 мкМ, 2 – 20 мкМ, 3 – 80 мкМ, 4 – 200 мкМ. CdSO_4 .

зависимость имела более сложный характер. Увеличение концентрации Cd в растворе от 4 до 80 мкМ приводило к пропорциональному увеличению его содержания в листе. Дальнейшее увеличение концентрации Cd в растворе до 200 мкМ приводило к пропорционально меньшему приросту накопления кадмия в тканях листа. У 9-дневных проростков, выращенных в присутствии 200 мкМ Cd, наблюдалась очень большая вариабельность в накоплении этого ТМ вторым листом, поэтому пришлось существенно увеличить число повторностей эксперимента для определения накопления кадмия в листе при этой концентрации.

При долговременном воздействии (31 день) стало заметно, что кадмий замедлял развитие растений. Большинство контрольных растений находилось в фазе выхода восьмого листа, при 20 мкМ Cd – в фазе выхода седьмого, при 80 мкМ Cd – в фазе выхода шестого, при 200 мкМ – в фазе выхода пятого листа (табл. 3). При этом у опытных растений наблюдалась тенденция замедления отмирания листьев. У контрольных растений

отмирали и высыхали второй и третий листья, тогда как у опытных растений эти процессы протекали медленнее и соответствующие листья у них имели более высокий уровень оводненности (табл. 4). Достоверное отличие от контроля демонстрировали только листья растений, выращенных при 20 мкМ Cd, однако та же тенденция наблюдалась и при более высоких концентрациях кадмия.

В длительных опытах токсическое действие кадмия проявилось очень сильно (табл. 3, рис. 4а). Так свежая масса 34-дневных растений, выращенных в присутствии 200 мкМ Cd, составляла 3.3% от массы контрольных растений (данные не приведены). Следует обратить внимание и на значительную потерю воды побегом (табл. 4).

Довольно неожиданными оказались данные о влиянии длительного роста растений кукурузы на содержание в листьях фотосинтетических пигментов (табл. 3, рис. 4б). У растений, выращенных в присутствии 20 мкМ Cd, уровень пигментов в расчете на грамм свежей массы был вдвое меньше относительно контроля.

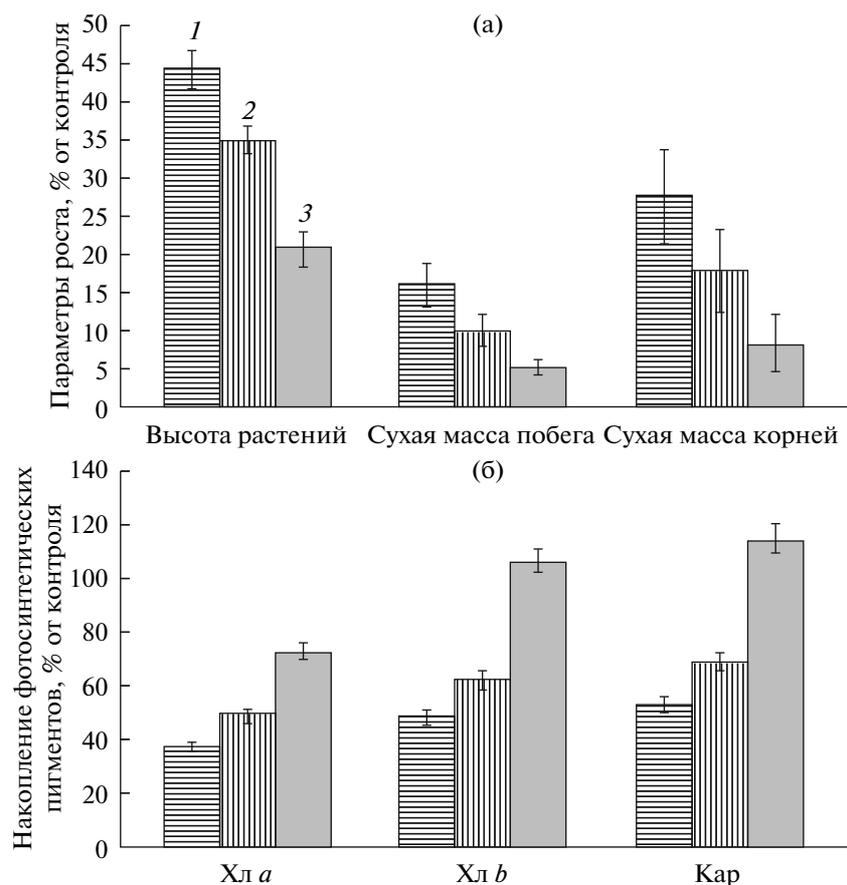


Рис. 4. Влияние кадмия на рост (а) и на содержание фотосинтетических пигментов (б) у растений кукурузы к 34 дню развития (31 день на среде с кадмием).

Содержание хлорофиллов и каротиноидов приведены как средние значения для четвертых и пятых листьев. 1 – 20 мкМ, 2 – 80 мкМ, 3 – 200 мкМ CdSO_4 .

При 80 мкМ Cd степень ингибирования была меньше, а растения, выращенные при 200 мкМ Cd, почти не отличались от контрольных по этому показателю. Такой характер изменений был зарегистрирован для всех пигментов (Хл а, Хл б и Кар).

При продолжительности воздействия CdSO_4 31 день связь между накоплением кадмия и его концентрацией в питательной среде хорошо аппроксимируется линейной зависимостью как для корней ($y = 101.87x + 1892.7$; $R^2 = 0.97$), так и для всего побега ($y = 6.0012x + 45.584$; $R^2 = 0.97$). При этом большая часть кадмия накапливалась в корнях (табл. 5). В побеге кадмий преимущественно накапливался в самых старых листьях. Увеличение концентрации кадмия в питательном растворе приводило к увеличению его содержания в расчете на единицу массы в листьях трех первых ярусов и в стебле (с влагалищами листьев), тогда как в тканях листьев четвертого–шестого ярусов такая тенденция не обнаруживалась (табл. 5). Распределение кадмия между побегом и корнем не зависело от концентрации данного ТМ в питательной среде.

Однако при увеличении концентрации кадмия в среде сильно возрос вклад зерновки в аккумуляцию кадмия – от 1.41% при 20 мкМ до 7.4–10.5% при 80–200 мкМ CdSO_4 (табл. 5).

В присутствии 200 мкМ Cd на 31-й день воздействия все растения были живы. При увеличении концентрации до 250 мкМ CdSO_4 наблюдали гибель отдельных растений, начиная с 8 дней воздействия кадмия (рис. 5). О гибели растений судили по полной некротизации побега; корни таких растений еще не были заметно некротизированы. Массовая гибель растений начиналась с 18-го дня роста на кадмии, к концу опыта (31-дневное воздействие) погибло 42% растений. Сходная динамика гибели наблюдалась при внесении кадмия, как в виде сульфата, так и в виде хлорида. Согласно уравнению на рис. 5, гибель 50% растений кукурузы следовало ожидать в результате 34-дневной экспозиции на 250 мкМ растворе Cd (у 37-дневных растений).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы провели анализ токсического воздействия кадмия и его накопления в растениях кукурузы сорта Лучистая, находящихся на разных стадиях развития. Полученные данные подтверждают, что у кукурузы кадмий преимущественно накапливается в корнях (табл. 2 и 5). По накоплению Cd в побеге (табл. 2) наши данные соответствуют данным других исследователей, изучавших накопление кадмия растениями кукурузы при сходной постановке эксперимента [12–14], тогда как содержание кадмия в корнях наших растений оказалось в несколько раз выше. Известно, что в побеге двудольных растений из семейства крестоцветных кадмий преимущественно накапливается в молодых (верхних) листьях [5, 17, 21], или же он распределяется между всеми ярусами относительно равномерно [17]. У однодольного растения кукурузы кадмий, напротив, преимущественно накапливался в нижних (старых) листьях. Чем выше и, соответственно, моложе был лист, тем меньше накапливалось кадмия в его листовой пластинке (табл. 5).

Известно, что кадмий, поступивший из корня в побег, растения могут выводить, например, в трихомы листьев [5, 6], а выделительные железы *Tamarix aphylla* могут выводить Cd на поверхность листа [22]. В наших экспериментах при концентрации 80 и 200 мкМ Cd в среде в проросшую зерновку попадало около трети кадмия, прошедшего “барьер корня” (табл. 5; зерновки не контактировали с питательным раствором). Однако в почвенном растворе концентрация свободного кадмия очень низка [23], поэтому остается не ясно, как много кадмия, поступившего из корня, может быть секвестировано в зерновке в полевых условиях.

Повышение концентрации кадмия в питательной среде вызывало пропорциональное увеличение его содержания в единице массы тканей корня (табл. 2 и 5). В побеге такая связь проявлялась слабее, а в верхних листьях 34-дневных растений кукурузы концентрационная зависимость не обнаруживалась вовсе (табл. 5).

По мере роста и увеличения продолжительности воздействия повышалось содержание Cd в единице массы органов (рис. 2, табл. 2 и 5), соответственно возрастало и суммарное накопление кадмия его органами и растением в целом. Разница в содержании кадмия в корнях и побегах (мкг/г сухой массы) с возрастом сокращалась, а по суммарному накоплению кадмия в органах - увеличивалась (табл. 2 и 5). Последнее может быть следствием того, что кадмий ингибировал накопление биомассы корня слабее, чем побега (рис. 3а и 4а).

При 200 мкМ Cd 9- и 34-дневные растения демонстрировали очень большую вариабельность в накоплении кадмия побегом (табл. 2 и 5). Вероят-

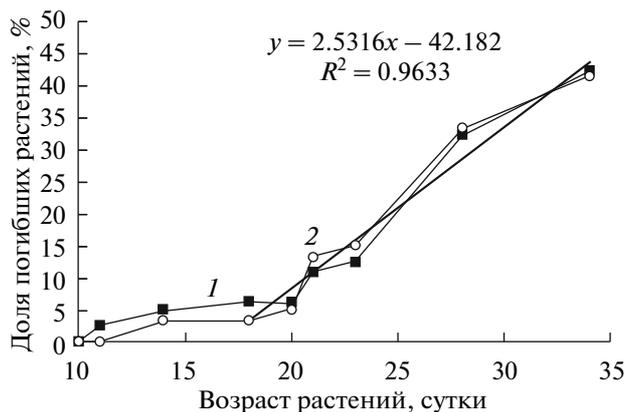


Рис. 5. Динамика гибели растений кукурузы при выращивании на среде с внесением 250 мкМ соли кадмия.

Кадмий вносили после 3 суток прорастания зерновок. График представляет долю растений, погибших к определенному дню. Для периода интенсивной гибели растений (с 18 до 34 суток) по данным экспериментов с обоими типами анионов построена суммарная аппроксимирующая зависимость (прямая линия). 1 – CdSO₄, 2 – CdCl₂.

но, при этой концентрации нарушается регуляция механизмов транслокации кадмия по растению, еще раз свидетельствуя, что концентрация 200 мкМ CdSO₄ близка к летальной для кукурузы сорта Лучистая.

Двудольные растения (*Brassica napus*, *B. juncea*, *Vigna radiata*), выращенные в сопоставимых экспериментальных условиях, адаптируются к присутствию в среде кадмия, и его токсическое воздействие со временем уменьшается [23, 24]. У кукурузы, напротив, токсический эффект кадмия усиливался с возрастом и увеличением продолжительности воздействия. Например, концентрация 200 мкМ Cd не оказывала достоверного воздействия на прорастание зерновок (табл. 1), ингибировала на 50% рост 9-дневных проростков (рис. 3а), а для 34-дневных растений степень ингибирования достигала 90% и более (рис. 4а).

У 34-дневных растений кукурузы наблюдалась задержка развития растений. В присутствии кадмия замедлялось как появление новых листьев (табл. 3), так и отмирание старых. У растений, выращенных на кадмии, старые листья отмирали медленнее, сохраняя относительно более высокую оводненность. Эта тенденция хорошо видна при анализе оводненности первых трех листьев у всех опытных растений, однако достоверное отличие от контроля продемонстрировали только растения, выращенные при 20 мкМ Cd (табл. 4). Признаков ускорения старения не было заметно ни в одном из вариантов опытов.

Из изученных нами параметров кадмий сильнее всего ингибировал накопление массы растений, в меньшей степени – линейный рост, еще

Таблица 5. Распределение кадмия по органам 34-дневных растений кукурузы (31 день на среде с кадмием)

Орган	Контроль		Концентрация Cd, мкМ						
			20		80		200		
	мкг/г сухой массы	мкг/орган	мкг/г сухой массы	мкг/орган	мкг/г сухой массы	мкг/орган	мкг/г сухой массы	мкг/орган	
Лист	8	1.9 ± 0.3 ^{a1}	0.23 ± 0.13 ^{a1}						
	7	3.3 ± 1.4 ^{a1}	0.38 ± 0.13 ^{a1}	63 ± 33 ^{a1}	0.47 ± 0.27 ^{a1}				
	6	6.4 ± 4.3 ^{a1}	0.70 ± 0.21 ^{a1}	113 ± 45 ^{aб1}	3.5 ± 1.2 ^{a1}	99 ± 18 ^{б1}	0.92 ± 0.67 ^{a1}		
	5	7.7 ± 4.1 ^{a1}	0.65 ± 0.22 ^{a1}	173 ± 47 ^{б1}	4.5 ± 1.0 ^{б1}	187 ± 73 ^{aб1}	3.9 ± 2.5 ^{aб1,2}	177 ± 58 ^{б1}	1.1 ± 0.90 ^{aб1}
	4	10.9 ± 4.3 ^{a1}	0.66 ± 0.19 ^{a1}	246 ± 65 ^{б1}	7.0 ± 2.0 ^{б1}	277 ± 45 ^{б1}	7.2 ± 2.0 ^{aб1,2}	288 ± 96 ^{б1}	3.0 ± 1.70 ^{aб1,2}
	3	23.6 ± 11.8 ^{a1}	0.79 ± 0.40 ^{a1}	433 ± 54 ^{б2}	9.4 ± 0.33 ^{б1,2}	553 ± 32 ^{б3}	10.3 ± 2.9 ^{бa2}	746 ± 49 ^{в2}	6.8 ± 0.24 ^{в2}
1 + 2	110 ± 55 ^{a1}	2.6 ± 1.10 ^{a1}	788 ± 48 ^{б3}	16.9 ± 3.2 ^{б2}	940 ± 47 ^{б4}	22.7 ± 7.3 ^{б2,3}	4861 ± 2947 ^{aб2}	66.4 ± 41.6 ^{aб4}	
Стебель*	5.5 ± 3.2 ^{a1}	2.2 ± 1.10 ^{a1}	230 ± 46 ^{б1}	21.8 ± 0.84 ^{б2}	369 ± 37 ^{б1,2}	24.2 ± 2.3 ^{б3}	656 ± 89 ^{в2}	22.9 ± 4.7 ^{aб3}	
Весь побег	10.6 ± 6.8 ^{a1}	8.1 ± 2.5 ^{a1,2}	271 ± 39 ^{б1,2}	63.5 ± 8.1 ^{б3}	427 ± 31 ^{в2}	69.3 ± 18.0 ^{б4}	1275 ± 418 ^{бв2}	100 ± 49 ^{б4,5}	
Зерновка	6.6 ± 2.7 ^{a1}	1.4 ± 0.57 ^{a1}	24.4 ± 9.0 ^{a1}	4.7 ± 2.0 ^{a1}	200 ± 63 ^{б1}	41.1 ± 12.3 ^{б3,4}	288 ± 68 ^{б1}	58 ± 6.0 ^{б4}	
Корень	247 ± 161 ^{a1}	21.3 ± 7.7 ^{a2}	4462 ± 641 ^{б4}	264 ± 20 ^{б4}	11987 ± 1808 ^{б5}	445 ± 36.5 ^{б5}	21435 ± 3181 ^{г3}	394 ± 125 ^{бв,5}	
Корень/побег	21.0 ± 8.4 ^a	2.5 ± 0.4 ^a	16.9 ± 4.9 ^a	4.2 ± 0.6 ^a	28.9 ± 9.9 ^a	7.0 ± 1.9 ^a	22.4 ± 17.5 ^a	4.9 ± 2.9 ^a	
Корень/лист (1 + 2)	1.8 ± 0.7 ^a		5.8 ± 2.0 ^a		12.9 ± 3.8 ^б		9.4 ± 9.0 ^{aб}		

Примечание. Приведены средние величины ± SE. Группы значений, различия между которыми достоверны ($\alpha < 0.05$): а-в – для одного органа растений, выращенных в присутствии различных концентраций кадмия; 1-6 – для разных органов растений, выращенных в присутствии одной концентрации кадмия. Листья растений пронумерованы в порядке их появления, соответственно, от нижних к верхним. Пустая ячейка означает, что лист данного яруса отсутствовал (у всех или у большинства растений).
* Стебель с влагалищами листьев.

меньше снижалось содержание фотосинтетических пигментов, и на 3–8% уменьшалась оводненность тканей (табл. 2–4; рис. 3, 4).

В изученном диапазоне концентраций (4–200 мкМ) CdSO_4 сильнее ингибировал накопление массы побегами, чем корнями (рис. 3а и 4а, табл. 2 и 3). У 34-дневных растений концентрации 80 и 200 мкМ Cd снижали оводненность побега сильнее, чем корней (табл. 4). Гибель растений также начиналась с побега: при летальной концентрации Cd (250 мкМ) у растений с полностью некротизированной надземной частью в зоне корня некрозы еще не были заметны. В тех же условиях сходным образом погибали и проростки ржи: у побега некротизация начиналась раньше, чем в зоне корня [25]. Эти данные позволяют сделать вывод, что кадмий ингибирует рост побега сильнее, чем рост корня, по крайней мере, у кукурузы и родственных ей видов.

В обзоре Серегина и Иванова [4], посвященном воздействию Cd и Pb на растения, делается противоположный вывод: “Рост корня более чувствителен к тяжелым металлам, чем рост побега”. Авторы опирались на экспериментальные работы, в которых растения выращивали на дистиллированной или водопроводной воде с внесением кадмия в соответствующих концентрациях (см. ссылки в обзоре [4]). Для проростков кукурузы возрастом менее недели, выращенных на воде, летальной являлась концентрация 10 мкМ Cd [26], тогда как в настоящей работе концентрация Cd 200 мкМ не приводила к гибели растений, выращиваемых на питательной среде в течение месяца.

Позднее были проведены работы, в которых кадмий вносили растениям кукурузы, выращиваемым на питательной среде Хогланда. В этих исследованиях было показано более сильное подавление кадмием накопления биомассы побегов в сравнении с биомассой корней [14, 27], хотя линейный рост корней ингибировался сильнее, чем побега [27]. Следует еще отметить работу [13], в которой приведены данные (рис. 2б), свидетельствующие, что Cd в концентрации 5 или 10 мкМ тормозил прирост свежей массы побегов, не влияя на корни, а при более высоких концентрациях кадмия массы обоих органов уменьшались сходным образом. Однако сделанный авторами вывод противоречит полученным ими результатам. Нам не удалось найти данные по ингибированию кадмием роста корней и побегов у растений кукурузы, выращенных в почве, но такие данные были получены в опытах с представителями того же подсемейства Panicoideae – *Digitaria sanguinalis* и родственного семейства – *Cyperus difformis*, а также двудольного растения *Chenopodium ambrosioides*. У этих растений, выращенных в почве, кадмий сильнее подавлял рост побега (и в длину, и по массе), чем корня [28]. В этих работах [12–

14, 27, 28] показано, что кадмий преимущественно накапливался в корнях, но его содержание в побегах тоже было довольно высоким (80 мкг/г сухой массы и более). Если же кукурузу выращивали на воде, то в побег попадало очень небольшое количество кадмия (менее 10 мкг/г сухой массы) [11]. Поэтому мы полагаем, что в условиях, близких к естественным (наличие освещения, минерального питания и оптимальной температуры), кадмий подавляет рост побега сильнее, чем корня.

Проведенный анализ показал, что физиологические изменения плохо коррелировали с накоплением кадмия в органах кукурузы. Кадмий преимущественно накапливался в корнях (табл. 2 и 5), но сильнее ингибировал рост побега (рис. 3а и 4а; табл. 2–4). Девятидневные проростки, выращенные в присутствии 20 и 80 мкМ CdSO_4 , сильно различались по накоплению ТМ в тканях: почти в два раза в корне и почти в три раза во втором листе, однако различие двух этих групп растений по большинству изученных параметров роста было очень невелико (табл. 2). Мы сопоставили содержание кадмия и фотосинтетических пигментов в листьях четвертого и пятого ярусов 34-дневных растений кукурузы. Листья одного и того же яруса у растений, выращенных при 20, 80 и 200 мкМ Cd, практически не отличались по содержанию кадмия, но сильно различались по содержанию фотосинтетических пигментов. В то же время, листья разных ярусов этих растений, напротив, отличались между собой по содержанию кадмия, и очень слабо – по содержанию фотосинтетических пигментов (табл. 3 и 5).

Авторы выражают благодарность проф. Н.В. Обручевой и д.б.н. И.В. Серегину за ценные советы.

Работа была выполнена при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований (№№ 10-04-90052-Бел_а, 10-04-00594-а и 10-04-00799-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pan J., Plant J.A., Voulvoulis N., Oates C.J., C. Ihlenfeld. Cadmium Levels in Europe: Implications for Human Health // Environ. Geochem. Health. 2010. V. 32. P. 1–12.
2. Sanita di Toppi L., Gabrielli R. Response to Cadmium in Higher Plants // Environ. Exp. Bot. 1999. V. 41. P. 105–130.
3. Siedlecka A., Krupa Z. Cd/Fe Interaction in Higher Plants – Its Consequences for the Photosynthetic Apparatus // Photosynthetica. 1999. V. 36. P. 321–331.
4. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 606–630.
5. Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J., Raskin I. Mechanisms of Cadmium Mobility and Accumulation in In-

- dian Mustard // *Plant Physiol.* 1995. V. 109. P. 1427–1433.
6. Choi Y.-E., Harada E., Wada M., Tsuboi H., Morita Y., Kusano T., Sano H. Detoxification of Cadmium in Tobacco Plants: Formation and Active Excretion of Crystals Containing Cadmium and Calcium through Trichomes // *Planta.* 2001. V. 213. P. 45–50.
 7. Baker A.J.M. Accumulators and Excluders – Strategies in Response of Plants to Heavy Metals // *J. Plant Nutr.* 1981. V. 3. P. 643–654.
 8. Antosiewicz D.M. Adaptation of Plants to an Environment Polluted with Heavy Metals // *Acta Soc. Bot. Polon.* 1992. V. 61. P. 281–299.
 9. Florijn P.J., van Beusichem M.L. Uptake and Distribution of Cadmium in Maize Inbred Lines // *Plant Soil.* 1993. V. 150. P. 25–32.
 10. Arao T., Ae N., Sugiyama M., Takahashi M. Genotypic Differences in Cadmium Uptake and Distribution in Soybeans // *Plant Soil.* 2003. V. 251. P. 247–253.
 11. Vojtechova M., Leblova S. Uptake of Lead and Cadmium by Maize Seedlings and the Effect of Heavy Metals on the Activity of Phosphoenolpyruvate Carboxylase Isolated from Maize // *Biol. Plant.* 1991. V. 33. P. 386–394.
 12. Lagriffoul A., Mocquot B., Mench M., Vangronsveld J. Cadmium Toxicity Effects on Growth, Mineral and Chlorophyll Contents, and Activities of Stress Related Enzymes in Young Maize Plants (*Zea mays* L.) // *Plant Soil.* 1998. V. 200. P. 241–250.
 13. Wojcik M., Tukiendorf A. Cadmium Uptake, Localization and Detoxification in *Zea mays* // *Biol. Plant.* 2005. V. 49. P. 237–245.
 14. Wang H., Zhao S.C., Liu R.L., Zhou W., Jin J.Y. Changes of Photosynthetic Activities of Maize (*Zea mays* L.) Seedlings in Response to Cadmium Stress // *Photosynthetica.* 2009. V. 47. P. 277–283.
 15. Inouhe M., Ninomiya S., Tohoyama H., Joho M., Murayama T. Different Characteristics of Roots in the Cadmium-Tolerance and Cd-Binding Complex Formation between Mono- and Dicotyledonous Plants // *J. Plant Res.* 1994. V. 107. P. 201–207.
 16. Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P. Cadmium Accumulation in Populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense* // *New Phytol.* 2000. V. 145. P. 11–20.
 17. Pielichowska M., Wierzbicka M. Uptake and Localization of Cadmium by *Biscutella laevigata*, a Cadmium Hyperaccumulator // *Acta Biol. Cracoviensia. Ser. Botanica.* 2004. V. 46. P. 57–63.
 18. Yang X.E., Long X.X., Ye H.B., He Z.L., Calvert D.V., Stoffella P.J. Cadmium Tolerance and Hyperaccumulation in a New Zn-Hyperaccumulating Species (*Sedum alfredii* Hance) // *Plant Soil.* 2004. V. 259. P. 181–189.
 19. Аникеев В.В., Кутузов Ф.Ф. Новый способ определения площади листовой поверхности у злаков // *Физиология растений.* 1961. Т. 8. С. 375–377.
 20. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes // *Methods Enzymol.* 1987. V. 148. P. 350–382.
 21. Dauthieu M., Denaix L., Nguyen C., Panfili F., Perrot F., Potin-Gautier M. Cadmium Uptake and Distribution in *Arabidopsis thaliana* Exposed to Low Chronic Concentrations Depends on Plant Growth // *Plant Soil.* 2009. V. 322. P. 239–249.
 22. Hagemeyer J., Waisel Y. Excretions of Ions (Cd^{2+} , Li^+ , Na^+ , and Cl^-) by *Tamarix aphylla* // *Physiol. Plant.* 1988. V. 73. P. 541–546.
 23. Carrier P., Baryla A., Havaux M. Cadmium Distribution and Microlocalization in Oilseed Rape (*Brassica napus*) after Long-Term Growth on Cadmium Contaminated Soil // *Planta.* 2003. V. 216. P. 939–950.
 24. Simonova E., Henselova M., Masarovicova E., Kohanova J. Comparison of Tolerance of *Brassica juncea* and *Vigna radiata* to Cadmium // *Biol. Plant.* 2007. V. 51. P. 488–492.
 25. Wojcik M., Tukiendorf A. Cd-Tolerance of Maize, Rye and Wheat Seedlings // *Acta Physiol. Plant.* 1999. V. 21. P. 99–107.
 26. Серегин И.В., Иванов В.Б. Гистохимические методы изучения распределения кадмия и свинца в растениях // *Физиология растений.* 1997. Т. 44. С. 915–921.
 27. Maksimovic I., Kastori R., Krstic L., Lukovic J. Steady Presence of Cadmium and Nickel Affects Root Anatomy, Accumulation and Distribution of Essential Ions in Maize Seedlings // *Biol. Plant.* 2007. V. 51. P. 589–592.
 28. Ewais E.A. Effects of Cadmium, Nickel and Lead on Growth, Chlorophyll Content and Proteins in Weeds // *Biol. Plant.* 1997. V. 39. P. 403–410.