

Сравнительное Исследование Стресс-Адаптивных Физиологических Изменений У Растений При Воздействии Тяжелых Металлов (Pb, Ni, Cu) В Условиях Хлоридного Засоления

Т.С. Ширвани*, А.Дж. Самедова, И.Т. Пириев, М.А. Аннагиева, Г.Х. Бабаева, Х.Л. Салаева, Ф.К. Алиева, В.М. Али-заде

Институт ботаники НАН Азербайджана, Бадамдарское шоссе, 40, Баку AZ1073, Азербайджан;

*E-mail: shirvani_ts@hotmail.com

Показаны качественные различия адаптационных физиолого-биохимических ответных реакций растений тыквы на тяжелые металлы разной природы в сопутствующих им условиях засоления на примере изменения параметров роста, накопления различных форм азота и активности протеолитических ферментов. Подтверждено мнение, что ответы растений на совместное воздействие токсикантов зависят от их вида и принадлежности к конкретным экологическим группам. Данные показали, что *Cucurbita pepo* L., относящаяся к гликофитам, проявляет низкую видоспецифичную толерантность к меди и заметную устойчивость к свинцу и никелю в условиях хлоридного засоления.

Ключевые слова: Свинец, никель, медь, засоление, стресс, тыква, рост, азотный обмен, протеиназы, кросс-адаптация

ВВЕДЕНИЕ

В связи с ухудшением экологической обстановки в мире со стороны ученых значительно повышается интерес к действию стресс-факторов на растения. Так, изучение влияния абиотических стрессоров на окружающую среду является одним из приоритетных направлений отечественной науки, реализуемых в рамках Национальной стратегии Азербайджана по охране и устойчивому использованию биологического разнообразия на 2017-2020 гг. Все более актуальной экологической проблемой в республике становится продолжающееся расширение территорий почв, загрязненных тяжелыми металлами (ТМ) и подверженных засолению. Вместе с тем с увеличением загрязнения почв ТМ и их засоления, негативно влияющих на рост и развитие растений, в частности, на их морфологические и физиолого-биохимические показатели, уменьшается количество диких и культурных видов растений, сокращается ареал их распространения и снижается кормовая и питательная ценность. Однако, характер физиолого-биохимических ответных реакций растений на совместное действие ТМ и хлоридного засоления, определяющих адаптивную стратегию растения к этим стрессорам, изучен на сегодняшний день недостаточно. Показано, что токсическое действие металлов разной природы вызывает качественно различные ответные физиологические реакции у одного и того же растения (Yruela, 2009; Иванова и др., 2010), характер же сов-

местного воздействия засоления и ТМ на растения прежде всего зависит от генотипа и принадлежности вида к определенным экологическим группам растений. Выявлено, что для гликофитов и галофитов характерны различные стратегии адаптации к совместному действию NaCl и ТМ (Волков и др., 2010).

Следует отметить, что медь (Cu), будучи компонентом ряда ферментов и участником лигнификации клеток, является одним из важнейших микроэлементов, необходимых в следовых количествах для жизнедеятельности всех растительных организмов (Yruela, 2005). Никель же (Ni), являясь составной частью фермента уреазы, участвующей в азотном обмене, необходим в ультрамалых количествах для некоторых видов растений. Он не играет такой существенной роли в метаболизме, которая свойственна меди. Однако, как и другие ТМ, при повышенных концентрациях Ni и Cu могут оказывать на растения токсическое действие (Серегин, Кожевникова, 2006; Sempel and Nickel, 2006). Свинец (Pb) не относится к необходимым питательным элементам и не выполняет биологических функций в живых организмах, но довольно легко поступает в корни растений, накапливаясь в них, и даже при очень низких концентрациях обладает высокой фитотоксичностью (Серегин, Иванов, 2001; Sharma, Dubey, 2005; Bhardway et al., 2009).

В данной работе показана специфика ответных реакций растений тыквы на длительное воздействие в условиях засоления Pb, Ni, Cu (каждо-

го в отдельности) на примере динамики их роста, азотного обмена - изменения содержания общего, белкового и небелкового азота в их органах и активности протеолитических ферментов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проводились еженедельные исследования токсичности Pb (100 мкМ $Pb(NO_3)_2$), Ni (50 мкМ $NiSO_4 \cdot 7H_2O$) и Cu (25 мкМ и 50 мкМ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$), добавленных каждый в отдельности и совместно с NaCl (100 мМ) в раствор Кнопа (0,5 N, pH 6,0), на растения *Cucurbita pepo* L., выращенные в течение 21 дня в 4 вариантах опыта для каждого металла (контроль, ТМ, NaCl, ТМ+NaCl). Ростовые параметры, различные формы азота, активность протеиназ определяли по общепринятым в физиологии растений методам, изложенным ранее (Ширвани и др. 2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Растения проявляют множественное разнообразие ответных реакций на стрессы окружающей среды на разных уровнях своей организации. Для определения адаптационного потенциала растений к экстремальным условиям значительный интерес представляет изучение их изменений на морфологическом и физиолого-биохимическом уровнях в период адаптации к конкретному стрессовому воздействию. Рост и азотно-белковый обмен, будучи наиболее ярко выраженными функциями жизнедеятельности организма, являются удобной экспериментальной моделью для выявления их роли в выработке адаптивной стратегии и устойчивости растений к воздействию ТМ в условиях засоления. Считается, что ростовые параметры, в частности, биомасса, а также распределение белкового азота по органам растений являются надежными показателями в тестах на степень устойчивости растительного организма (Абдрашева, 2013).

Анализ особенностей формирования и функционирования адаптивных систем у растений по их ответным реакциям на индивидуальное и совместное воздействие ТМ и хлоридного засоления показал, что во всех трех случаях с металлами (Pb, Ni, Cu) изученные нами ростовые и физиолого-биохимические параметры растений (линейный рост корней, стеблей и листьев, их сухой и сырой вес, показатели азотного метаболизма и активности протеазной системы) подверглись заметным изменениям под воздействием металлов, взятых как отдельно, так и совместно с NaCl. В случае свинца и никеля адаптация растений к хлоридному засолению

сопровождается некоторым снижением токсического эффекта взятых в избытке металлов на их ростовые и метаболические процессы, что прослеживается в наших экспериментах по определению параметров роста (Рис. 1, а), накоплению биомассы (Рис.1, b), содержанию различных форм азота, в частности, белкового азота в корнях и надземных органах опытных растений (Рис.2, а). Как видно из рисунка 1, а, рост стеблей 21-дневных растений ингибировался сильнее при NaCl, чем под воздействием свинца. Корень, наоборот, не испытывал повреждающего действия обоих токсикантов, используемых как отдельно, так и совместно, и даже превосходил по длине контрольные растения в вариантах с NaCl и Pb+NaCl.

В случае Ni рост корня также ингибировался в меньшей степени, чем рост стебля во всех вариантах опыта. В варианте совместного использования Ni и NaCl ростовые параметры были гораздо выше и у корня, и у стебля, чем в варианте индивидуального использования Ni (Рис.1, а). По другим же данным, избыток Ni вызывал прежде всего торможение роста корня, например, у лука (Liu et al., 1994) и подсолнечника (Ahmad et al., 2010). По всей видимости, растения тыквы относятся скорее к аккумуляторам Ni, чем к его исключателям, и никель, больше накапливаясь в надземных частях, свободно передвигаясь к ним из корня по тканям стели (Серегин, Кожевникова, 2006), оказывает на их рост более сильное ингибирующее воздействие, чем на корень.

Действие Pb и Ni, используемых совместно с NaCl, было более благоприятным и для накопления сухой биомассы корнями растений, чем индивидуальное действие каждого из этих металлов (Рис. 1, b), особенно в случае Ni. В случае свинца корни, обработанные Pb+NaCl, опережали контрольные растения по биомассе, а в случае никеля растения из варианта Ni+NaCl опережали растения, обработанные только Ni. И здесь, как и в случае линейного роста, наблюдается протекторный эффект среднего засоления от токсического действия взятых ТМ на растения.

Анализ полученных данных по распределению белкового азота, представляющего для нас особый интерес как показатель активности биосинтетических процессов и критерий устойчивости организма (Сергейчик, Сергейчик, 2002), показал, что содержание белкового азота в корнях и в стеблях опытных растений, обработанных только Pb, было выше, чем его содержание в этих же органах под воздействием только NaCl, по всей вероятности, за счет повышения содержания свободных аминокислот, вызванного свинцом (Bhardway et al., 2009).

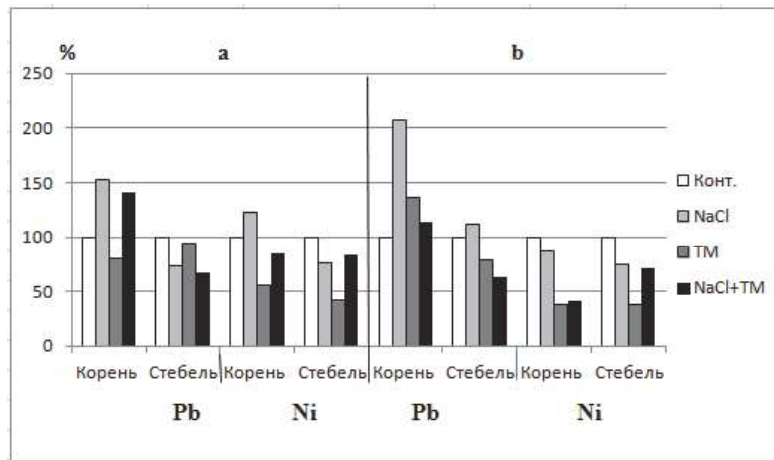


Рисунок 1. Влияние Pb и Ni при их раздельном и совместном с NaCl применении на длину корня и стебля 21-дневных растений тыквы (а) и на накопление сухой биомассы в них (б) (в % от контроля)

При комплексной обработке растений Pb и NaCl накопление белкового азота несколько уменьшается как в корнях, так и в стеблях, однако в корнях оно оставалось почти 2 раза выше, чем в побегах. В работе же Singh et al. (2003) выявлено увеличение содержания органического азота скорее в стеблях, чем в корнях мша при воздействии на них обоих стрессоров одновременно. Сходная картина наблюдалась и при обработке растений тыквы никелем (Рис. 2, а): и здесь мы наблюдаем более высокое содержание белкового азота в корнях, чем в стеблях при комплексной обработке растений Ni+NaCl. Более усиленный вклад корневой системы относительно стебля растения, находящегося под стрессом, в обеспечение организма белковыми азотистыми соединениями свидетельствует об

устойчивости растений к конкретному стрессу (Абдрашева, 2013), в нашем случае к Pb, Ni, Pb+NaCl, Ni+NaCl. По соотношению белковый азот/небелковый азот корни 21-дневных опытных растений, испытывающих воздействие Pb, Ni и засоление, превосходили стебли во всех вариантах опыта и особенно в варианте совместного использования хлорида натрия и никеля. В случае же свинца, наоборот, стебли отличались от корня более высоким соотношением белковый азот/небелковый азот, особенно в варианте с индивидуальным использованием Pb. Значительная роль в формировании адаптивной стратегии растений тыквы к избытку Pb и Ni отводится и системе протеолиза, участвующей в азотном обмене.

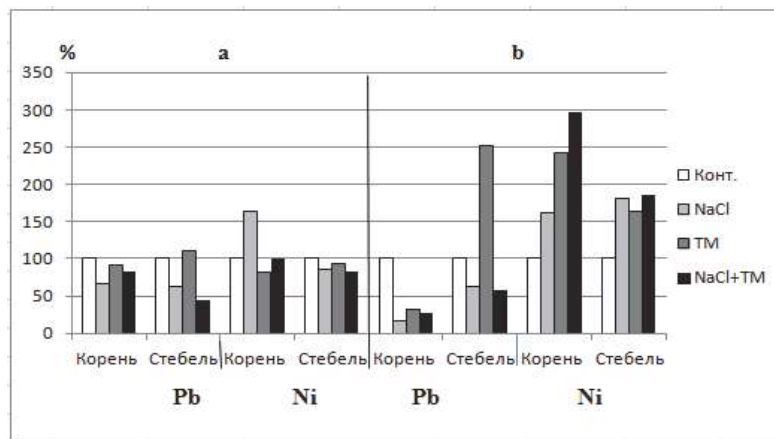


Рисунок 2. Содержание белкового азота (а) и отношение белковый N/небелковый N (б) в органах 21-дневных растений тыквы, подвергнутых воздействию Pb и Ni при их раздельном и совместном с NaCl применении (в % от контроля)

В стрессированных растениях, подвергнутых совместному действию NaCl и металлов (Pb и Ni, каждого в отдельности), наблюдалось повышение активности протеолитических ферментов в корнях (Pb) и в семядольных листьях (Ni) по сравнению с контролем (Табл.), усиливающее гидролитический распад белков на аминокислоты и создание на их основе новых защитных белковых компонентов, необходимых растению для выживания в этих экстремальных условиях.

Результаты, отображающие изменения ростовых параметров растений, подвергнутых токсическому воздействию Cu (25мкМ и 50 мкМ) и NaCl, взятых раздельно и в комплексе, показали, что растения тыквы (в отличие от экспериментов с Pb и Ni) не испытывали заметного снижения токсического действия меди при обеих ее дозах в условиях совместного использования с хлоридом натрия.

Как видно из наших данных (Рис. 3, а, б), при высокой дозе Cu в 50 мкМ корни растений оказались более чувствительными к воздействию его избытка, чем стебли, а при дозе 25 мкМ по своей длине превосходили контрольные

образцы на 5,2 %. Совместное действие Cu (50 мкМ) и NaCl оказалось более негативным для ростовых процессов в корневой системе по сравнению с побегами и снижало его длину на 45 % и накопление биомассы на 68% относительно контроля. При дозе Cu в 25мкМ длина корней в условиях засоления была на 6,3% ниже контроля, а накопление ими биомассы превосходило контрольные варианты на 40%. И тем не менее, при совместном действии токсикантов корни накапливали биомассу в меньших количествах, чем при обработке только Cu и только NaCl (Рис. 3, б).

Комплексное применение токсикантов (Cu и NaCl) несколько ингибировало и синтетические процессы в растениях, особенно в корнях, на последних стадиях опыта и усиливало гидролитические процессы, что подтверждают полученные нами результаты по уменьшению содержания белка азота/ небелковый азот (Рис. 4, а, б), по снижению накопления растворимых белков и снижению активности протеиназ во всех органах растений в случае Cu в 50 мкМ и ее усилению при дозе Cu 25мкМ (Табл.).

Таблица. Протеолитическая активность в надземных и подземных органах 21-дневных растений тыквы, подвергнутых воздействию Pb, Ni и Cu (каждого в отдельности) в условиях засоления (в % от контроля в расчете на 1 растение)

Органы	Pb				Ni			
	Конт.	NaCl	Pb	NaCl+Pb	Конт.	NaCl	Ni	NaCl+Ni
Корень	100	534,5	342,0	150,6	100	128,6	30,5	92,2
Сем. лист	100	93,3	168,0	98,0	100	112,6	330,8	255,0
Наст. лист	100	193,0	103,0	29,2	100	34,9	11,7	9,8
Cu (50 мкМ)					Cu (25 мкМ)			
Органы	Конт.	NaCl	Cu	NaCl+Cu	Конт.	NaCl	Cu	NaCl+Cu
Корень	100	110,3	117,3	89,1	100	140,1	40,6	241,4
Сем. лист	100	173,7	38,9	70,9	100	121,1	87,7	111,4
Наст. лист	100	23,0	96,2	13,0	100	67,0	377,8	257,7

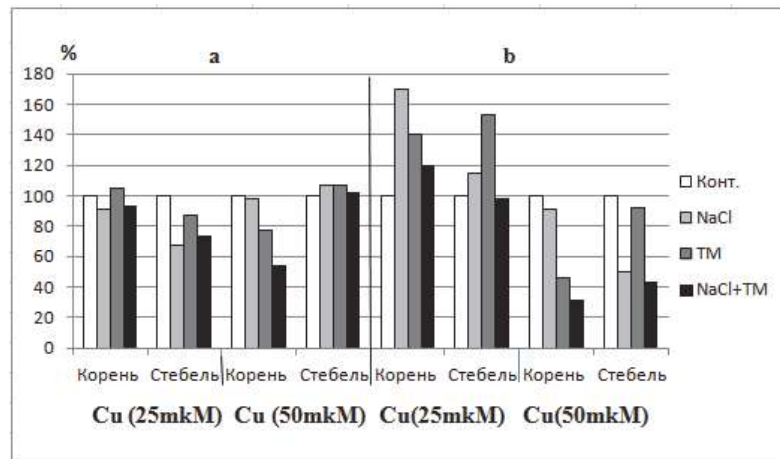


Рисунок 3. Влияние Cu (25 и 50 мкМ) при раздельном и совместном с NaCl применении на длину корня и стебля 21-дневных растений тыквы (а) и на накопление сухой биомассы в них (б) (в % от контроля)

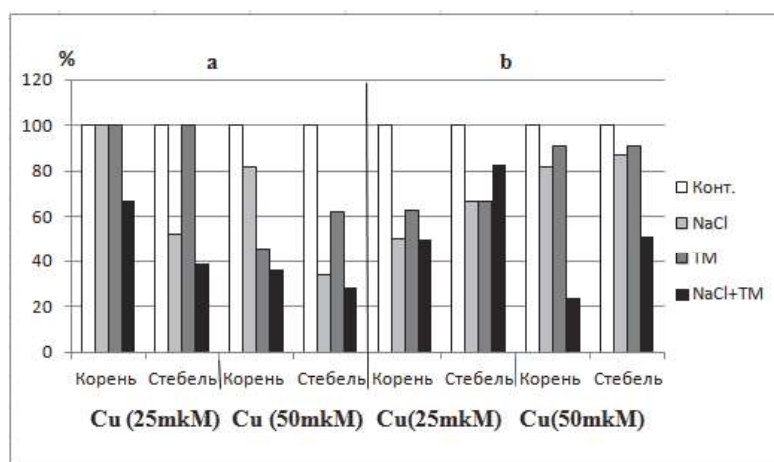


Рисунок 4. Содержание белкового азота (а) и отношение белковый N/ небелковый N (b) в органах 21-дневных растений тыквы, подвергнутых воздействию Cu (25мкМ и 50 мкМ) при раздельном и совместном с NaCl применении (в % от контроля)

Отношение белковый азот/небелковый азот в наших экспериментах с Cu и NaCl было выше в побегах, чем в корнях во всех вариантах опыта, особенно в вариантах их совместного применения (Рис. 4, а, b). Это свидетельствует о снижении Cu + NaCl активности синтетических процессов в подземных органах, особенно при высокой дозе Cu и, в целом, о пониженной устойчивости растений тыквы к совместному воздействию взятых стрессоров.

В отличие от Pb и Ni, при которых в растениях, как указано выше, наблюдалась положительная кросс-адаптация к совместному использованию их солей и солей натрия, что было показано и для других видов растений (Стеценко, 2014), в случае Cu засоление, наоборот, усиливало его негативный эффект на все указанные параметры растений тыквы, что было особенно заметно при высокой дозе Cu (50 мкМ), при которой (в комплексе с NaCl) наблюдалась гибель некоторых экземпляров. Это свидетельствует о наличии отрицательной кросс-адаптации растений тыквы к комплексу солей натрия и меди, наблюдаемой даже при уменьшенной дозе Cu, несмотря на то, что она оказалась значительно благоприятней для роста и развития растений тыквы, чем доза в 50 мкМ. Иная стратегия адаптации к совместному действию хлоридного засоления и Cu отмечена у факультативного галофита хрустальной травки в работе Волкова К.С. и др. (2010). Авторы выявили протекторный эффект хлорида натрия от фитотоксичности меди (на примере накопления биомассы) при адаптации данного галофита к ее избытку.

Таким образом, полученные результаты подтвердили существующее мнение о каче-

ственных различиях адаптационных физиологических ответов растений на тяжелые металлы разной природы в сопутствующих им условиях засоления, зависящих от видоспецифической чувствительности к ним растений и принадлежности последних к определенным экологическим группам. Эксперименты показали высокую восприимчивость тыквы, относящейся к гликофитам, особенно ее корней, к медьиндуцируемой токсичности в присутствии NaCl и низкую видоспецифическую толерантность *Cucurbita pepo* к меди в условиях засоления.

ЛИТЕРАТУРА

- Абдрашева К.К.** (2013) Изучение адаптации к действию тяжелых металлов на примере арабидопсиса различных генотипов. *Матер. Респ. науч.-теор. конф. «Сейфуллинские чтения-9: новый вектор развития высшего образования и науки»*, Казахстан, **1(2)**: 233-235.
- Волков К.С., Холодова В.П., Швартау В.В., Кузнецов Вл.В.** (2010) Протекторный эффект хлорида натрия при адаптации растений хрустальной травки к избытку меди. *Физиол. и биохим. культ. растений*, **42(5)**: 414-423.
- Иванова Е.М., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В.** (2010) Биологические эффекты высоких концентраций меди и цинка и характер их взаимодействия в растениях рапса. *Физиология растений*, **57(6)**: 864-873.
- Сергейчик А.А., Сергейчик С.А.** (2002) Влияние токсичных компонентов техногенных эмиссий на устойчивость хвойных лесобразующих пород Беларуси. *Тез. докл. Межд.*

- науч. конф. «Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира». Минск: 246-250.
- Серегин И.В., Иванов В.Б.** (2001) Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. *Физиол. растений*, **48**: 606-630
- Серегин И.В., Кожевникова А.Д.** (2006) Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения. *Физиология растений*, **53**: 285-308.
- Стеценко Л.А.** (2014) Влияние никеля на содержание атропина в растениях *Atropa belladonna* L. при умеренном засолении. *Матер. XI Межд. научно-методической конф. «Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия культурных растений»*. Махачкала: **часть 2**: 63-66.
- Ширвани Т.С., Самедова А.Д., Салаева Х.Л., Пириев И.Т., Аннагиева М.А., Али-заде В.М.** (2010) Воздействие различных доз кадмия на ростовые и физиолого-биохимические характеристики растений тыквы. *Известия НАНА, биол. науки*, **65(3-4)**: 3-11.
- Ahmad M.S., Ashraf M., Hussain M.** (2010) Phytotoxic effects of nickel on yield and concentration of macro- and micro-nutrients in sunflower (*Helianthus annuus* L.) Achenes. *J. Hazard. Mater.*, **10**: 234-240.
- Bhardway P., Chaturvedi A.K., Prasad P.** (2009) Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris* L. *Nature and Science*, **7(8)**: 63-75.
- Cempel M., Nikel G.** (2006) Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. *Pol. J. Environ. Stud.*, **15**:375-382.
- Liu D., Jiang W., Guo L., Hao Y., Lu C., Zhao F.** (1994) Effects of nickel sulphate on root growth and nucleoli in root tip cells of *Allium cepa*. *Israel J. Plant Sci.*, **42**:143-148.
- Sharma P. and Dubey R.Sh.** (2005) Lead toxicity in plants. *Braz.J. Plant Physiol.*, **17(1)**: 35-52.
- Singh R.P., Tripathi R.D., Dabas S., Rizvi S.M., Ali M.B., Sinha S.K., Gupta D.K., Mishra S., Rai U.N.** (2003) Effect of lead on growth and nitrate assimilation of *Vigna radiata* (L.) Wilczek seedlings in a salt affected environment. *Chemosphere*, **52**: 1245-1250
- Yruela I.** (2005) Copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, **17**: 145-156.
- Yruela I.** (2009) Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Funct. Plant Biol.*, **36**: 409-430.

Xlorid Duzlaşma Şəraitində Ağır Metalların (Pb, Ni və Cu) Təsiri İlə Bitkilərdə Stress-Adaptiv Fizioloji Dəyişkənliklərin Müqayisəli Tədqiqi

T.S. Şirvani, Ə.C. Səmədova, İ.T. Piriye, M.Ə. Ənnağıyeva, G.X. Babayeva,
X.L. Salayeva, F.K. Əliyeva, V.M. Əlizadə

AMEA Botanika İnstitutu

Xlorid duzlaşma ilə müşayiət olunan müxtəlif təbiətli ağır metallara balqabaq bitkisinin adaptasion fizioloji-biokimyəvi cavab reaksiyalarının keyfiyyət fərqləri - böyümə parametrləri, müxtəlif azot formalarının toplanması və proteolitik fermentlərin fəallığının dəyişməsi göstərilmişdir. Təsdiq edilmişdir ki, bitkilərin toksikantların birgə təsirinə cavab reaksiyaları onların növündən və konkret ekoloji qrupa mənsub olmasından asılıdır. Nəticələr qlikofitlərə mənsub olan *Cucurbita pepo* L.-in xlorid duzlaşma şəraitində misə aşağı növspeşifik toleranlığa, qurğuşun və nikelə isə nəzərəçarpan davamlığa malik olduğunu göstərmişdir.

Açar sözlər: Qurğuşun, nikel, mis, şoranlaşma, stress, balqabaq, böyümə, azot mübadiləsi, proteinazalar, kross-adaptasiya

**Comparative Study Of Stress-Adaptive Physiological Alterations In Plants
Caused By The Action Of Heavy Metals Under Chloride Salinity Conditions**

**T.S. Shirvani, A.J. Samadova, I.T. Piriyeu, M.A. Annagiyeva, G.Kh. Babayeva,
Kh.L. Salayeva, F.K. Aliyeva, V.M. Ali-zade**

Institute of Botany, Azerbaijan National Academy of Sciences

The qualitative distinctions in adaptive physiological biochemical response reactions of pumpkin plants to heavy metals of different nature under salinity conditions were shown on the example of dynamics of growth, accumulation of various forms of nitrogen and activities of proteolytic enzymes. It was confirmed that plant responses to combined action of toxicants depend on species of plants and their belonging to concrete ecological groups. Data showed the low species-specific tolerance of *Cucurbita pepo* L. belonging to glycophytes, to copper and its noticeable resistance to lead and nickel under conditions of salinity.

Keywords: *Lead, nickel, copper, salinity, stress, pumpkin, growth, nitrogenous metabolism, proteinases, cross-adaptation*