

УДК 581.1

## КАДМИЙ КАК РЕГУЛЯТОР ЗАЩИТНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ

Гончарук Е. А., Загоскина Н. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук,  
г. Москва, Россия, e-mail: goncharuk-ewgenia@yandex.ru

Тяжёлые металлы составляют основную долю промышленных выбросов, поступающих в окружающую среду в результате хозяйственной деятельности человека, а наиболее токсичным и опасным для живых организмов поллютантом является кадмий. Он влияет на физиолого-биохимические и микроструктурные характеристики растений, и, как следствие, возникает проблема изменения их хозяйственно-ценных признаков. Лён культурный (*Linum usitatissimum*) представляет собой культуру комплексного использования. Являясь аккумулятором кадмия, он обладает высокой экологической пластичностью и имеет широкий ареал возделывания. Представлены данные о влиянии этого поллютанта на накопление соединений фенольной природы, выполняющих разнообразные функции, включая протекторную, и микроструктуру стебля, определяющую качество волокна такой прядильной культуры, как лён-долгунец.

**Ключевые слова:** *Linum usitatissimum*, лён-долгунец, поллютанты, кадмий, фенольные соединения, микроструктура.

Современные агроэкологические системы, находящиеся под влиянием антропогенных источников, ставят задачу изучения устойчивости растений к действию различных стрессовых факторов. При этом важно исследовать формирование у них хозяйственно ценных признаков, определяемых условиями выращивания культур и влияющих на границы повышения их продуктивности. Новые подходы, использующие физиологические, биохимические, биотехнологические методы, а также методы микроструктурного анализа расширяют возможности объективной оценки действия стрессовых условий на физиолого-биохимические процессы растительных организмов, включая адаптационный потенциал и продуктивность [1]. Эти характеристики формируют понятие жизнеспособности и устойчивости растений.

Тяжёлые металлы составляют основную долю промышленных выбросов, поступающих в окружающую среду в результате хозяйственной деятельности человека, тогда как естественные концентрации поллютантов в почвах невелики. Помимо выбросов промышленных предприятий и отраслевого машиностроения, значительный вклад в развитие неблагоприятной агроэкологической ситуации вносят автотранспортные отходы, одними из основных составляющих которых являются соединения кадмия – наиболее токсичного для растительных организмов элемента [9]. Повышение его содержания в окружающей среде приводит к ингибированию многих физиологических процессов, влияя на рост, функционирование фотосинтетической системы, водного обмена и транспорта метаболитов [16]. Негативное воздействие металла сказывается и на состоянии клеточных мембран, что проявляется в их структурных изменениях и снижении проницаемости, а также в активности некоторых компонентов антиоксидантной системы растений [6, 13]. Степень выраженности повреждающего действия поллютанта на растение, как правило, определяется металлоустойчивостью растительного организма, а также его защитно-приспособительными реакциями [7, 14]. Основным механизмом детоксикации кадмия связан с его хелатированием высокоаффинными лигандами. Важная роль отводится и антиоксидантной системе, защищающей клетки от активных форм кислорода, количество которых значительно возрастает при его поступлении [7]. Помимо функционирования ключевых антиоксидантных ферментов, для которых характерна высокая специфичность действия, важными и неферментативными компонентами этой системы являются соединения фенольной природы [8]. Обладая способностью к обратимому окислению, они могут прерывать каскад реакций перекисного окисления липидов и предотвращать развитие окислительного стресса. Высокая реакционная способность фенольных соединений и многообразие их функций обуславливают участие этих вторичных метаболитов в защитных механизмах растений, подвергнутых действию кадмия [4].

Из многочисленных видов льна наибольшее практическое применение и хозяйственное значение имеет лён культурный (*Linum usitatissimum*). Являясь аккумулятором кадмия, он представляет интерес как культура, имеющая широкий ареал возделывания, без исключения территорий, подверженных повышенному поступлению поллютанта в почву. Известно также, что растения-аккумуляторы тяжёлых металлов могут успешно применяться в системе фиторемедиации почв [11, 17]. При этом важна оценка состояния отдельных видов льна и их ответных реакций на присутствие тяжёлого металла в окружающей

среде, что имеет не только практическое значение, но и позволяет изучать механизмы металлоустойчивости.

**Целью исследования** являлось изучение биохимических и микроструктурных особенностей клеток стебля льна с различным уровнем дифференциации, а также локализации в них фенольных соединений при действии кадмия.

**Объекты и методы.** Объектом исследования являлись 14-дневные проростки льна-долгунца *Linum usitatissimum* сорта 'Ленок' и каллусные культуры, полученные из сегментов их гипокотилей. Для получения стерильных проростков семена помещали на агаризованную безгормональную питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), содержащую 2 % сахарозы. Для инициации первичной каллусной ткани и последующего её культивирования использовали модифицированную питательную среду МС, содержащую сахарозу (2 %) и 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (1 мг/л). При изучении действия кадмия к основной питательной среде добавляли  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  в концентрации 60 или 75 мкМ. Все культуры выращивались в условиях 16-часового фотопериода. Проростки и каллусные культуры анализировали на 21 и 30 день роста соответственно.

Фенольные соединения извлекали из растительного материала 96%-ным этанолом. В экстрактах определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений (реактив Фолина-Дениса, 725 нм) и содержание фенилпропаноидов (метод прямого спектрофотометрирования, 330 нм) [5]. Калибровочную кривую строили по рутину и кофейной кислоте соответственно.

Для изучения локализации фенольных соединений получали срезы стеблей проростков и каллусов льна (толщина 70 мкм) на микротоме с вибрирующим лезвием TermoScientificMicom 650 (США). Для выявления локализации всех классов полифенолов использовали 0,008%-ный раствор реактива "FastBlue" [15]. В каждом варианте определяли площади 100 клеток каждого типа и рассчитывали их средние значения, используя программу Zen.

**Результаты и их обсуждения.** Поскольку присутствие кадмия в окружающей среде приводит как к физиолого-биохимическим, так и микроструктурным изменениям в растениях, то возникает проблема изменения их хозяйственно-ценных признаков. В большинстве случаев они ухудшаются [17]. Это касается и продуктивности льна-долгунца, широко используемого в различных отраслях промышленности [1, 11]. В связи с этим представляло значительный интерес выявить влияние этого поллютанта на накопление соединений фенольной природы, обладающих разнообразными функциями в растениях, включая протекторную, а также

на микроструктуру стебля, определяющую качество волокна данной прядильной культуры. И в этом случае методы биотехнологии *in vitro* дают возможность исследовать клетки с различным уровнем дифференциации, что помогает выявить их ответные реакции на присутствие стрессора. Проведённые исследования позволили установить, что для каллусных культур льна характерна более высокая способность к накоплению фенольных соединений, по сравнению с проростками (на 50 %). При действии кадмия характер ответной реакции этих *in vitro*-систем был различным. Так, в клетках с низкой степенью дифференциации (каллус) значительных изменений в накоплении фенольных соединений не отмечалось. Что касается проростков, то при действии высокой концентрации металла (75 мкМ) оно повышалось (на 50 % относительно контроля) и практически не изменялось в присутствии более низкой его концентрации (65 мкМ). Известно, что в фенольном комплексе льна преобладают фенилпропаноиды [2]. Их содержание в каллусных культурах возрастало на 50 % в присутствии обеих концентраций кадмия, тогда как в проростках – только при действии более высокой его концентрации (на 40 %). Исходя из этих данных, можно предположить, что защита клеток льна-долгунца от действия поллютанта в большей степени обусловлена полимерами фенольной природы или лигнаноподобными веществами, относящимися к классу фенилпропаноидных метаболитов и обладающих антиоксидантными и протекторными свойствами.

Как уже отмечалось выше, структурная организация тканей и клеток растений имеет важное значение для их жизнеспособности. Данные микроструктурных исследований позволили установить, что действие кадмия приводило к нарушениям структуры стебля проростков льна-долгунца и оказывало влияние на микроструктуру клеток каллусных культур. У проростков это выражалось прежде всего в изменении размеров клеток стебля. При действии кадмия уменьшалась площадь элементарных волоконцев и увеличивалась площадь клеток эндодермы (внутреннего слоя коровой паренхимы, примыкающего непосредственно к поверхности лубяных волокон), тогда как площадь клеток эпидермиса не изменялась. Известно, что качество волокна зависит от строения и размера клеток элементарных волоконцев [11]. Если эти показатели подвержены значительным изменениям при действии стрессора, то это является свидетельством их недостаточной длины, неравномерности структуры и, как следствие, плохого качества продукта [1, 17]. Об увеличении размеров клеток эндодермы у интактных растений льна-долгунца при действии кадмия сообщалось ранее [3]. Идентичность микроструктурных изменений данной ткани в условиях *in vitro* и *in vivo* свидетельствует о её функциональной роли при действии тяжёлых

металлов [10]. Что касается эпидермальных клеток, то, по всей видимости, выполняя барьерную функцию, они не подвержены воздействию токсичных ионов.

Следует отметить, что в присутствии поллютанта фенольные соединения локализовались преимущественно в кутикулярном слое гипокотелей проростков льна и в незначительном количестве – в межклеточном пространстве клеток коровой паренхимы. По всей видимости, область локализации фенольных соединений соотносится с областью накопления ионов металла, приуроченной преимущественно к эпидермальному слою клеток [12].

У каллусных культур, подвергнутых действию кадмия, уменьшалась площадь формирующих их клеток паренхимного типа (как крупных, так и мелких). При этом фенольные соединения во всех вариантах были обнаружены в вакуолярном содержимом паренхимных клеток. Можно предположить, что, вероятно, как и в случае клеток с высоким уровнем дифференциации (проростки), это соотносится с местом локализации ионов поллютанта в клетке [12].

**Заключение.** Установлено, что в присутствии кадмия у культур с различным уровнем дифференциации клеток наряду с биосинтетической способностью изменяется и микроструктура формирующих тканей, при этом фенольные соединения локализованы в клетках тех тканей, которые наиболее подвержены токсическому действию поллютанта.

#### Библиографический список

1. Вакула С.И., Леонтьев В.Н., Никитинская Т.В., Титок В.В. Сравнительный анализ количественных признаков льна культурного (*Linum usitatissimum* L.) с использованием компьютерной морфометрии // Труды БГТУ. Серия 4: Химия, технология органических веществ и биотехнология. – 2009. – Т. 1. – №. 4. – С. 196-200.
2. Вольнец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. – Минск: Беларуская навука, 2013. – 283 с. – ISBN: 978-985-08-1515-6.
3. Гончарук Е.А., Баранова Е.Н., Калашникова Е.А., Загоскина Н.В. Влияние кадмия на рост растений и структуру стебля льна-долгунца // Агрехимия. – 2015. – №. 2. – С. 70-78. – ISSN: 0002-1881.
4. Гончарук Е.А., Загоскина Н.В. Тяжёлые металлы: поступление, токсичность и защитные механизмы растений (на примере ионов кадмия) // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2017. – №. 1. – С. 35-49. – ISSN: 1992-4917.
5. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 185-197.
6. Казнина Н.М., Батова Ю.В., Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф. Роль отдельных компонентов антиоксидантной системы в адаптации растений *Elytrigia repens* (L.) Nevski к кадмию // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2016. – №. 11. – С. 17-26. – ISSN: 1997-3217. – doi: 10.17076/eb365
7. Колупаев Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2007. – №. 3. – С. 6-26. – ISSN: 1992-4917.

8. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Физиологические функции неэнзиматических антиоксидантов растений // ВісникХарківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2015. – № 2. – С. 6-25. – ISSN: 1992-4917.
9. Лянгузова И.В. Тяжёлые металлы в системе почва–растение: подвижность, поступление и распределение // Проблемы экологии растительных сообществ Севера. – СПб.: ООО ВВМ, 2005. – С. 175-189.
10. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжёлые металлы и растения. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. – 194 с. – ISBN: 978-5-9274-0641-8.
11. Титок В.В., Лемеш В.А., Хотылева Л.В. Генетика, физиология и биохимия льна. – Минск: Беларуская навука, 2010. – 220 с.
12. Gorshkova T.A., Salnikov V.V., Pogodina N.M., Chemikosova S.B., Yablokova E.V., Ulanov A.V., Lozovaya V.V. Composition and distribution of cell wall phenolic compounds in flax (*Linum usitatissimum* L.) stem tissues // Annals of Botany. – 2000. – Т. 85. – № 4. – P. 477-486. – ISSN: 0305-7364. – doi: 10.1006/anbo.1999.1091
13. Hossain Z., Hajika M., Komatsu S. Comparative proteome analysis of high and low cadmium accumulating soybeans under cadmium stress // Amino Acids. – 2012. – Т. 43. – № 6. – P. 2393-2416. – ISSN: 0939-4451.
14. Hradilová J., Řehulka P., Řehulková H., Vrbová M., Griga M., Brzobohatý B. Comparative analysis of proteomic changes in contrasting flax cultivars upon cadmium exposure // Electrophoresis. – 2010. – Т. 31. – № 2. – P. 421-431. – ISSN: 0173-0835.
15. Kotyk A., Lapathitis G., Suttajit M. Effects of a ferrate-containing preparation of diverse metabolic processes in yeast // Folia microbiologica. – 2000. – Т. 45. – № 6. – P. 505-507. – ISSN: 0015-5632.
16. Schutzendubel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // Journal of experimental botany. – 2002. – Т. 53. – № 372. – P. 1351-1365. – ISSN: 0022-0957.
17. Stamboulis A., Baillie C.A., Peijs T. Effects of environmental conditions on mechanical and physical properties of flax fibers // Composites Part A: Applied Science and Manufacturing. – 2001. – Т. 32. – № 8. – P. 1105-1115. – ISSN: 1359-835X

## CADMIUM AS A REGULATOR OF PLANTS PROTECTIVE-ADAPTIVE REACTIONS

Goncharuk Ye. A., Zagoskina N. V.

*Federal State Budgetary Scientific Institution  
Institute of Plants Physiology named after K. A. Timiryazev  
of the Russian Science Academy,  
c. Moscow, Russia, e-mail: goncharuk.ewgenia@yandex.ru*

Heavy metals constitute the considerable part of industrial emissions that enter the environment as a result of human production activity. Cadmium is the most toxic and dangerous pollutant for living organisms. It affects the physiological, biochemical and microstructural characteristics of plants and, as a consequence, the problem of changing their economically valuable characteristics arises. Common flax (*Linum usitatissimum*) is a culture of integrated use. Being cadmium accumulator, it possesses high ecological flexibility and has a wide range of cultivation. The paper informs about the effect of this pollutant on the accumulation of phenolic compounds that perform various functions, including the tentative function and the microstructure of the stem, which determines the quality of the fiber in such spinning culture as common flax.

**Key words:** *Linum usitatissimum*, common flax, pollutants, cadmium, phenolic compounds, microstructure.