

УДК: 575.633

Н. Ж. ОМИРБЕКОВА

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM L.*)

*(Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы,
e-mail: omirbekova_nargul. @ kaznu.kz)*

Изучено действие $CdCl_2$ на элементы продуктивности пшеницы, содержание пролина и количественные показатели внутренней анатомической структуры.

Сельское хозяйство Казахстана относится к зоне критического земледелия, более 50% пахотных земель засолены, а в засушливые годы многие регионы испытывают водный дефицит. В природных условиях адаптация растений к экстремальным факторам среды (засуха, засоление) сопровождается снижением их продуктивности (замедление процессов роста) в аридных и полуаридных условиях.

Мягкая пшеница – приоритетная колосовая злаковая культура Республики Казахстан. Поскольку зерновые колосовые среди сельскохозяйственных культур являются основным продуктом питания, то урожайности и качеству зерна придают большое значение. Поэтому приоритетной задачей практической селекции является создание устойчивых и пластичных сортов пшеницы.

Опыт применения мутагенных факторов в селекционных целях убедительно показывает, что химический мутагенез по праву может занять одно из ведущих мест среди многочисленных методов селекции растений. Для повышения эффективности мутационной селекции растений необходимо изучение условий и методов мутагенного воздействия, позволяющих расширить спектры наследственной изменчивости и повысить выход полезных мутаций. Для этого необходимо подобрать в качестве мутагена химические соединения, вызывающие изменчивость с положительным эффектом. Одним из возможных таких соединений являются соли тяжелых металлов.

Кадмий среди тяжелых металлов является одним из токсичных соединений, поскольку обладает высоким кумулятивным эффектом, не подвергается биодеградации и практически не выводится из организма [1]. Показано влияние ионов кадмия на изменение морфологических

показателей, на клеточное деление и рост растений, на синтез белка и нуклеиновых кислот у пшеницы, кукурузы, гороха, овса [2–5]. Ряд данных литературы свидетельствует о том, что соли кадмия обладают мутагенным эффектом [6, 7]. Например, С. Гомес-Арройо с соавторами [6] показали, что при обработке солями кадмия ($CdCl_2$ и $Cd(NO_3)_2$) семян конских бобов общая частота изменений сестринских хроматид возрастает при высоких концентрациях (0,324 mM) по сравнению с контролем. Коэффициент корреляции для $CdCl_2$ составлял 0,91, а для $Cd(NO_3)_2$ – 0,90.

В наших предыдущих исследованиях предпосевная обработка семян водным раствором $CdCl_2$ (0,01%) индуцировала изменение признаков, которые затрагивали как качественные, так количественные признаки. Установлено, что обработка семян $CdCl_2$ индуцирует у мягкой пшеницы изменения, которые выражаются в появлении в первом поколении (M_1) мощных растений с продуктивными селекционно-ценными признаками. Эти растения обладали характерными признаками исходного сорта, а по ряду количественных признаков превосходили контрольные варианты. Были получены мутантные формы в первом поколении (M_1), которые характеризовались высокой продуктивной кустистостью, удлинением колоса с удлиненной колосковой чешуйей, имеющих крупное стекловидное зерно, увеличенным числом и массы зерен главного колоса, массой 1000 зерен. Измененные признаки наследовались в ряду поколений (M_2 – M_4) [8].

В связи с разносторонним действием кадмия представляло интерес изучить влияние 0,01% водного раствора $CdCl_2$ на изменчивость количественных показателей внутренней анатомической структуры, элементы продуктивности пшеницы и содержание пролина.

Материалы и методы исследования.

Объектом исследования служили 14-дневные проростки четырех сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) местной селекции: Казахстанская 3, Женис, Шагала, Надежда, мутантные формы с измененными морфологическими параметрами, полученные при действии $CdCl_2$.

Обработку семян пшеницы проводили 0,01% водным раствором хлористого кадмия перед посевом. Экспозиция 5 часов при $t = 25^\circ C$. После обработки $CdCl_2$ семена промывали 30 мин проточной водой, подсушивали и проводили посев на полях ТОО «Земледелие и растениеводство» АО «КазАгроИнновация» в оптимальные сроки. Способы посева и агротехника выращивания растений были общепринятыми. Контролем служили сухие семена исходного сорта.

Учитывали следующие элементы продуктивности: высоту растений, продуктивную кустистость, длину, число и массу зерен главного колоса, массу 1000 зерен.

Для анатомических исследований вегетативные органы растений фиксировали по общепринятым методикам [9]. Срезы материала проводили на микротоме с замораживающим устройством ТОС-2.

Содержание пролина определяли в вегетативных органах проростков методу L. Bates с соавт. [10]. Для определения содержания пролина был построен калибровочный график в интервале от 0,01 до 0,2 мМ пролина. При построении графика использовали навеску и различные разведения чистого пролина фирмы “Ajinomoto” (Япония).

Для получения 14-дневных проростков, семена замачивали в 200 мл 0,01% $CdCl_2$ в течение 5 часов при температуре $25^\circ C$. Обработанные семена промывали 30 мин в проточной воде, затем по 5 мин. трижды – стерильной водой. Семена помещали в пластиковые чашки Петри и проращивали 48 часов на смоченной водой фильтровальной бумаге в термостате при $t = 25^\circ C$. Затем проростки проращивали при комнатной температуре на свету. Проростки поливали проточной отстойной водой. Контролем служили необработанные семена пшеницы.

Микрофотографирование объектов исследования проводили на микроскопе Axioskop 40, Carl Zeiss. Статистическая обработка проведена согласно Рокицкому П. Ф. [11].

Результаты и их обсуждение. Известно, что продуктивность растений является интегральным показателем, который зависит от многих факторов, изменяющихся в широком диапазоне. Она слагается из таких элементов как продуктивная кустистость, количество колосков в колосе, его озерненность и продуктивность, масса 1000 зерен.

В табл. 1 представлены результаты изучения влияния хлористого кадмия в концентрации 0,01% на элементы продуктивности пшеницы.

Установлено, что $CdCl_2$ стимулирует элементы продуктивности пшеницы, такие как продуктивная кустистость и число зерен в главном колосе. Например, у сорта Шагала в первом поколении продуктивная кустистость по сравнению с контрольным вариантом статистически достоверно возрастает от $7,30 \pm 0,40$ до $10,10 \pm 0,50$ шт., масса зерна в главном колосе от $1,60 \pm 0,10$ до $2,20 \pm 0,80$ г. Во втором поколении у данного сорта одни показатели продуктивности повышаются, другие снижаются. Так, продуктивная кустистость достоверно увеличивается от $6,80 \pm 0,80$ до $17,20 \pm 1,20$ шт., число зерен в главном колосе от $50,20 \pm 0,60$ до $54,00 \pm 2,00$ шт., длина колоса от $9,70 \pm 0,30$ до $11,80 \pm 0,20$ см, а масса зерна в главном колосе и масса 1000 зерен снижается. Достоверное увеличение продуктивной кустистости, длины и числа зерен главного колоса в M_1 и M_2 наблюдается также у сорта Женис, однако масса зерна главного колоса в M_2 остается на уровне контрольного варианта.

Важной особенностью индуцированных мутаций высших растений является высокая степень плейотропии. Большинство мутантов характеризуется каким-то одним главным легко различимым признаком и целым рядом других измененных признаков, наследующихся вместе с ним. Как правило, это признаки определяющие продуктивность растения: высота стебля, элементы структуры урожая, содержание белка в зерне [12]. Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что кадмий влияет на морфогенез побегов.

У многих растений свободный пролин накапливается в ответ на разнообразные абиотические и биотические стрессы: водный дефицит, неблагоприятные температуры, засоление, ионы тяжелых металлов, инфекция патогенами, нехватка питания или ультрафиолетовое облучение

Таблица 1. Влияние хлористого кадмия в концентрации 0,01% на элементы продуктивности пшеницы разных сортов

Вариант опыта	Высота растений, см	Продуктивная кустистость, шт.	Главный колос			Масса 1000 зерен, г
			Длина, см	Число зерен, шт.	Масса зерен, г	
Сорт Надежда						
K	75,07±0,74	4,6±0,05	11,50±0,11	58,8±0,57	2,95±0,05	50,50
M ₁	82,86±0,61**	3,63±0,13**	11,45±0,07	56,63±0,97	2,99±0,04	52,33
K	97,48±1,09	5,50±0,12	11,45±0,05	51,11±0,10	2,39±0,03	51,48
M ₂	110,11±0,46**	4,11±0,19**	12,00±0,13*	48,00±0,80**	2,48±0,05	51,79
Сорт Шагала						
K	103,50±0,50	7,30±0,40	10,80±0,10	45,50±1,00	1,60±0,10	43,27
M ₁	90,20±2,10***	10,10±0,50***	14,50±0,10***	38,40±0,08**	2,20±0,80**	44,01
K	124,00 ± 0,80	6,80 ± 0,80	9,70 ± 0,30	50,20 ± 0,60	1,30 ± 0,60	46,60
M ₂	127,60±2,20**	17,20±1,20***	11,80±0,20**	54,00 ± 2,00**	1,10±0,70	43,10
Сорт Женис						
K	99,30 ± 0,80	4,80 ± 0,60	12,30 ± 0,80	33,00 ± 0,80	1,82 ± 0,62	38,50
M ₁	96,20 ± 3,60	7,20±0,60**	15,00 ± 0,30**	43,50 ± 0,90**	2,62 ± 0,32	42,04
K	113,50±1,60	12,40±1,10	12,90±0,80	42,00 ± 0,80	1,20 ± 0,50	37,15
M ₂	123,90±0,80**	22,00±2,10***	15,00±0,4**	48,70 ± 0,50**	1,20 ± 0,60	35,84

Примечание: * – разность достоверности при 95% уровне вероятности; ** – разность достоверности при 99%.

[13]. Учитывая важную роль пролина в адаптации к абиотическим факторам среды, представляло интерес определить содержание пролина у проростков пшеницы, обработанных 0,01% водным раствором CdCl₂.

В табл. 2 представлены данные о содержании пролина в вегетативных органах проростков пшеницы в ответ на воздействие соли кадмия.

Показано статистически достоверное накопление свободного пролина в вегетативных органах проростков пшеницы. Так, накопление пролина в листьях сорта Казахстанская 3 увеличивается почти на 270%, в корнях на 165%

относительно контроля. У сорта Шагала аккумуляция пролина возрастает в листьях до 190%, в корнях проростков до 148% по сравнению с контролем. Отмечено также достоверное увеличение содержание свободного пролина в стеблях проростков пшеницы 20 до 22 %.

Полученные результаты подтверждают литературные данные о том, что высокое содержание свободного пролина в проростках растений является показателем устойчивости организма к действию абиотических факторов [13].

Известно, что растения слабо усваивают многие тяжелые металлы даже при их высоком

Таблица 2. Действие 0,01% CdCl₂ на накопление свободного пролина в вегетативных органах проростков пшеницы сорта Казахстанская 3 и Шагала

Варианты опыта	Накопление свободного пролина в вегетативных органах пшеницы, мкМ/г		
	листья	стебли	корни
Казахстанская 3			
Контроль	0,10±0,05	0,31± 0,02	0,23±0,018
CdCl ₂	0,37±0,02**	0,38±0,006*	0,61±0,02***
Шагала			
Контроль	0,21±0,06	0,50± 0,02	0,35±0,06
CdCl ₂	0,61±0,03**	0,60±0,01***	0,87±0,01***

Примечание: * – при P< 0,05; ** – при P<0,01; *** – при P<0,001.

содержании в почве из-за того, что они находятся в виде малорастворимых соединений. По способности к аккумуляции тяжелых металлов выделяют две контрастные группы растений: исключатели, у которых поглощаемые тяжелые металлы задерживаются в корневой системе и практически не поступают в побеги, и гипераккумуляторы, у которых они накапливаются в больших количествах в надземных органах без видимого нарушения метаболизма. Распределение различных металлов в побегах имеет свои особенности. Это зависит от физико-химических свойств их ионов, а также определяется принадлежностью растений к типу исключателей или гипераккумуляторов. Кадмий и свинец поступают в надземные органы растений-исключателей в ограниченном количестве. В побегах эти металлы обнару-

жены в проводящих тканях и эпидермисе [14].

В данном исследовании при гистологическом анализе выявлено, что 0,01% водный раствор $CdCl_2$ изменяет анатомическую структуру вегетативных органов пшеницы. Выявлено, что сорт Казахстанская 3 более чувствителен к действию соли кадмия, чем сорт Женис.

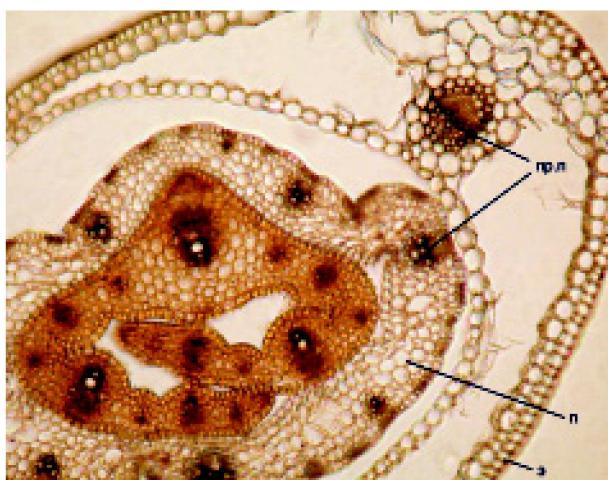
Результаты исследований влияния хлористого кадмия на рост и развитие внутренней анатомической структуры стебля мягкой пшеницы представлены в табл. 3 и рис. 1.

Стебель. При изучении влияния соли кадмия на анатомическое строение стебля мягкой пшеницы сорта Казахстанская 3 установлено, кадмий изменяет только толщину выполненной части на 16% ($175,14 \pm 3,52$ мкм) в сравнении с контролем ($149,91 \pm 4,72$ мкм). При изучении действия $CdCl_2$

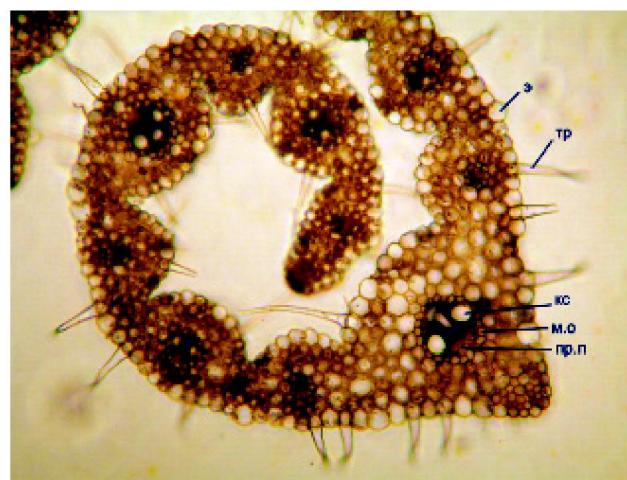
Таблица 3. Влияние $CdCl_2$ на морфометрические показатели стебля пшеницы

Сорт	Варианты	Толщина эпидермиса, мкм	Толщина выполненной части, мкм	Площадь проводящих пуков, $\times 10^{-3}$ мм ²	Площадь сосудов ксилемы, $\times 10^{-3}$ мм ²
Стебель					
Казахстанская 3	Контроль	$25,05 \pm 1,59$	$149,91 \pm 4,72$	$70,04 \pm 8,85$	$2,43 \pm 0,33$
	Опыт	$27,57 \pm 1,18$	$175,14 \pm 3,52^{***}$	$51,91 \pm 2,86$	$2,99 \pm 0,13$
Женис	Контроль	$31,21 \pm 0,96$	$177,10 \pm 16,23$	$75,37 \pm 6,35$	$2,20 \pm 0,25$
	Опыт	$25,79 \pm 1,65^{**}$	$175,05 \pm 7,17$	$39,79 \pm 2,71^{***}$	$2,47 \pm 0,30$

Примечание: ** – при $P < 0,01$; *** – при $P < 0,001$.



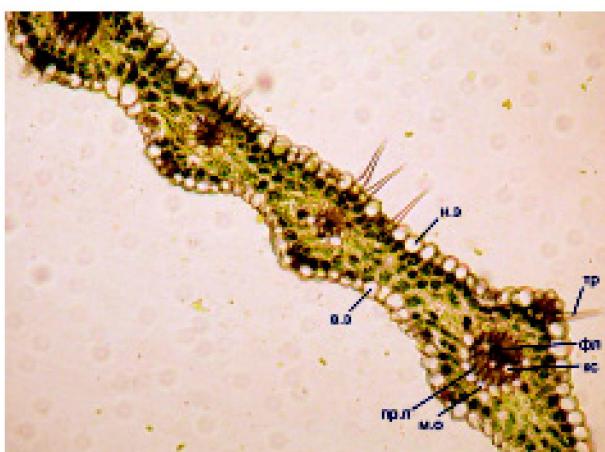
Необработанные семена



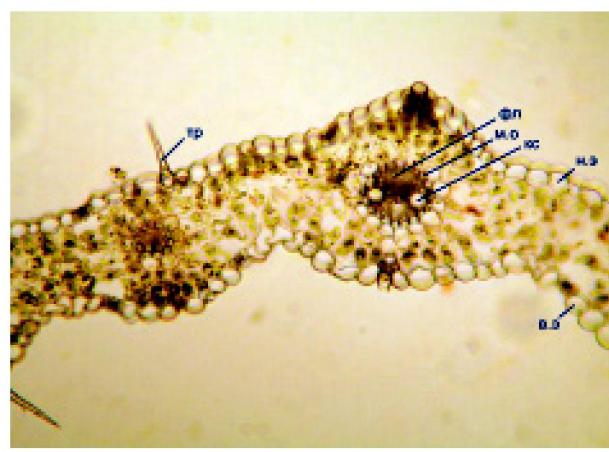
Обработанные кадмием семена

э – эпидермис; пр. п – проводящий пучок; п – паренхима; скл – склеренхима; фл – флюзма; кс – ксилема; в. кан – водоносный канал; м. о – механическая обкладка пучка (х 63)

Рис. 1. Влияние $CdCl_2$ на анатомическое строение стебля пшеницы сорта Женис



Необработанные семена



Обработанные кадмием семена

в. э – верхний эпидермис; н. э – нижний эпидермис; пр. п – проводящий пучок; кс – ксилема; фл – флоэма; в. кан – водоносный канал; м. о – механическая обкладка пучка (х 63)

Рис. 2. Влияние $CdCl_2$ на анатомическое строение листовой пластинки сорта Женис

на стебли сорта Женис показано, что на 48% уменьшается площадь проводящих пучков ($39,79 \pm 2,71 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$) по сравнению с контролем ($75,37 \pm 6,35 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$) и утончается толщина эпидермиса на 18% ($25,79 \pm 1,65 \text{ мкм}$) по сравнению с контрольным вариантом ($31,21 \pm 0,96 \text{ мкм}$). При этом $CdCl_2$ не влияет на площадь сосудов ксилемы стебля. Вероятно, различия в морфометрических показателях стеб-

ля зависят от реакции генотипов исследуемых сортов на действие соли тяжелого металла.

Листья. Во внутренней структуре листовых пластинок пшеницы под воздействием $CdCl_2$ также наблюдается изменение морфометрических показателей: толщины эпидермальных клеток и листовой пластинки, площади проводящих пучков и сосудов ксилемы (табл. 4, рис. 3).

Таблица 4. Влияние $CdCl_2$ на морфометрические показатели листьев пшеницы

Сорт	Вариант	Толщина эпидермиса, мкм		Толщина листовой пластинки, мкм	Площадь проводящих пучков, $\times 10^{-3} \text{ мм}^2$	Площадь сосудов ксилемы, $\times 10^{-3} \text{ мм}^2$
		верхний	нижний			
Казахстанская 3	Контроль	$18,97 \pm 0,80$	$18,22 \pm 1,00$	$99,81 \pm 8,73$	$39,76 \pm 5,00$	$2,79 \pm 0,20$
Опыт	$24,21 \pm 0,70^{***}$	$21,68 \pm 0,70^{**}$	$143,93 \pm 4,50^{***}$	$37,47 \pm 1,60$	$2,19 \pm 0,10^{*}$	
Женис	Контроль	$29,25 \pm 1,30$	$27,66 \pm 1,57$	$137,38 \pm 3,50$	$55,82 \pm 3,00$	$2,74 \pm 0,10$
Опыт	$30,0 \pm 1,90$	$26,26 \pm 0,88$	$146,26 \pm 3,00$	$51,39 \pm 1,80$	$3,22 \pm 0,10^{**}$	

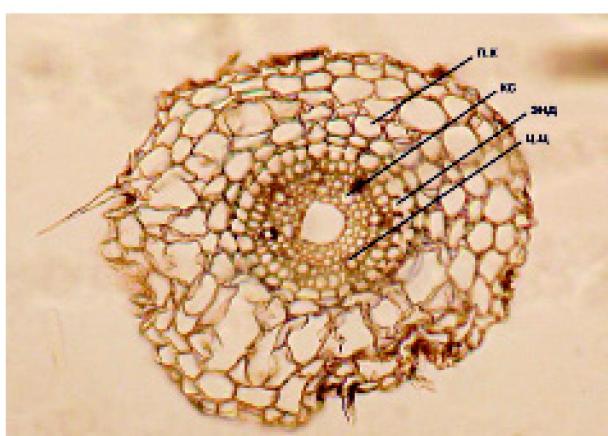
Примечание: * – при $P < 0,05$; ** – при $P < 0,01$; *** – при $P < 0,001$.

Выявлено, что при действии $CdCl_2$ у сорта Казахстанская 3 увеличивается толщина как верхнего (27%), так и нижнего эпидермиса (18%), толщина листовой пластинки (44%) и уменьшается площадь сосудов ксилемы (22%). У листовых пластинок опытного варианта сорта Женис статистически достоверно увеличивается площадь ксилемных сосудов (17,5%).

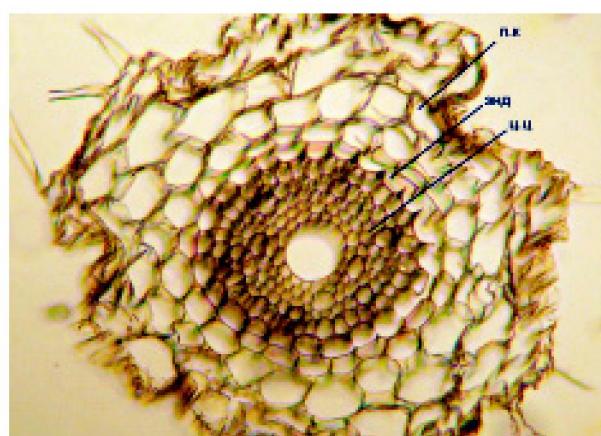
Корень. Действие $CdCl_2$ вызывает небольшие изменения внутренней анатомической структуры корней растений и практически не оказы-

вает влияние на корневую систему пшеницы (табл. 5, рис. 3).

Однако, наблюдаются незначительные уменьшения толщины слоя клеток первичной коры и толщины эндодермы как у сорта Казахстанская 3, так и Женис. При этом статистически достоверно уменьшается диаметр центрального цилиндра корня от $194,3 \pm 5,8$ до $175,0 \pm 3,8 \text{ мкм}$. Согласно литературным данным, большую часть площади поперечного сечения корня занимают клетки коры, которые могут накапливать Cd, Pb, Sr.



Необработанные семена



Обработанные кадмием семена

П. к – первичная кора; энд – эндодерма; ц. ц – центральный цилиндр; пц – перицикл; кс – ксилема (х 63)

Рис. 3. Влияние CdCl_2 на анатомическое строение корня пшеницы сорта Женис

Таблица 5. Влияние CdCl_2 на морфометрические показатели корня пшеницы

Сорт	Варианты	Толщина первичной коры, мкм	Диаметр центрального цилиндра, мкм	Толщина эндодермы, мкм	Площадь сосудов ксилемы, $\times 10^{-3} \text{ мм}^2$
Казахстанская 3	Контроль	168,13±6,67	194,39±5,84	26,92±6,41	2,73±0,23
	Опыт	149,16±11,31	175,05±3,86**	22,06±0,74	2,71±0,14
Женис	Контроль	162,99±7,43	141,49±2,06	19,16±0,51	1,97±0,09
	Опыт	153,18±9,08	141,22±1,80	18,79±1,25	2,03±0,08

Примечание: ** – при $P < 0,01$.

У растений, в частности у кукурузы, кадмий, как, и свинец накапливается главным образом в ризодерме и коре, содержание этих металлов в эндодерме было ниже, чем в клетках прилегающего к эндодерме слоя коры [14, 15].

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы, что хлористый кадмий в концентрации 0,01%:

- повышает показатели элементов продуктивности: продуктивная кустистость и число зерен в главном колосе;
- увеличивает содержание свободного пролина в проростках растений;
- изменяет морфометрические показатели в тканях листа, стебля и корня в зависимости от генотипа растительного организма: сорт Женис более устойчив к действию CdCl_2 , чем сорт Казахстанская 3.

ЛИТЕРАУРА

1. Минеев В.Т., Макарова А.И., Гришина Т.А. Тяжелые металлы и окружающая среда в условиях современной интенсивной химизации. I. Кадмий // Агрономия. 1981. № 5. С. 146–155.
2. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф., Шибаева Н.А. Изменение морфологических показателей *Avena sativa* под действием кадмия // Тез. докл. Межд. конф. “Проблемы сохранения биоразнообразия в наземных и морских экосистемах Севера”. Апатиты. 2001.
3. Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф. Влияние кадмия на апикальные меристемы стебля растений ячменя // Онтогенез. 2006. Т. 37. С. 444–448.
4. Stolt P., Asp H., Hultin S. Genetic variation in wheat cadmium accumulation on soils with different cadmium concentrations // Journal of agronomy and crop science. 2006. V. 192. № 3. P. 201–208.
5. Лишко А.К. Действие кадмия на процессы синтеза белка и нуклеиновых кислот на ранних этапах прорастания семян: Авт. канд. дис. Тбилиси, 1985.
6. Gomes-Arroyo S., Cortes-Eslava J., Bedolla-Cansino R.M. and all. Sister chromatid exchanges induced by heavy metals in *Vicia faba* // Biologia Plantarum. 2001. №44 (4). P. 591–594.

7. Селезнева Е.М., Гончарова Л.И., Белова Н.В. Влияние ионов кадмия на некоторые морфофизиологические и биохимические показатели ячменя // Агрохимия. 2008. № 4. С. 82–86.
8. Чунетова Ж.Ж., Омирбекова Н.Ж., Шулембаева К.К. Морфогенетическая изменчивость сортов мягкой пшеницы индуцированная CdCl₂//Генетика. 2008. №11. С. 1503–1507.
9. Барыкина Р.П. и др. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: МГУ, 2004. 312 с.
10. Bates L.S., Waldrten R.P., Teare I.D. Determination of Free Prline for Water Stress Studies // Plant and soil. 1973. V. 39, № 1. P. 205–207.
11. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. М.: Колос, 1973. 327 с.
12. Поползухина Н.А. Индуцированный мутагенез и гибридизация в селекции яровой мягкой пшеницы. Омск, 2003. 224 с.
13. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 321–336.
14. Серегин И.В., Иванов В.Б. Гистохимические методы изучения распределения кадмия и свинца в растениях // Физиология растений. 1997. Т. 44. С. 915–921.

Резюме

Әртүрлі жұмысқа бидай сорттарының өнімділік элементтеріне, бос пролиннің жиналуына және ішкі анатомиялық құрылымына хлорлы кадмийдің 0,01% сулы ертіндісінің әсері зерттелді.

Зерттеу нәтижесінде өнімділік элементтерінің өзгеретіндігі анықталды. M₁-ті белгілері өзгерген формалардың M₂-гі үрпактарында тұракты түқым қуалауы көрсетілді.

0,01% CdCl₂ ертіндісінің әсерінен жұмысқа бидайдың өскіндеріндегі бос пролиннің жиналуы анықталды. Өсімдік организмдегі бос пролиннің әте көп жиналуы, оның абиотикалық факторлардың әсеріне төзімділік көрсеткіші екендігі дәлелденді. Кадмий тұзының иондары әсеріне Шагала сорттының төзімділігі жоғары.

Қазақстандық 3 және Женіс бидай сорттарының ішкі анатомиялық құрылымына CdCl₂ сандық көрсеткіштеріне әсері байқалды. Қазақстандық 3 сорттың карағанда, Женіс сорттының CdCl₂ әсерінде төзімді екендігі анықталды.

Summary

Action of 0.01% CdCl₂ solution on elements of wheat productivity, free proline content and inner anatomic structure of different sorts of soft wheat has been studied.

During study changes in productivity elements were revealed. It was shown that features of mutant forms in M₁ were strongly inherited in M₂ generation.

High content of free proline in seedlings of soft wheat indicated its tolerance to the action of abiotic factors and was highest for Shagala sort.

0.01% CdCl₂ promoted alterations in quantitative indicators in wheat inner anatomic structures. As a result it was shown that Zhenis sort is more tolerant to the effect of 0.01% CdCl₂ than Kazakhstanskaya 3.