

УДК 581.5:581.132:633.11

РАЗДЕЛЬНОЕ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ СТРЕСС-ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ПШЕНИЦЫ¹

© 2022 г. Е. С. Холопцева^{1,*}, Ю. В. Венжик²¹ Институт биологии – обособленное подразделение ФИЦ “Карельский научный центр РАН”
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, Россия² Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
127276 Москва, ул. Ботаническая, 35, Россия

*E-mail: holoptseva@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 01.03.2022 г.

После доработки 04.04.2022 г.

Принята к публикации 16.05.2022 г.

Постоянно меняющиеся условия природной среды, климатические флуктуации и возрастающая антропогенная нагрузка на экосистемы заставляют исследователей применять все более разнообразные подходы для понимания адаптивных возможностей растительных организмов. Одним из таких подходов является сравнительный анализ реакции растений на раздельное и последовательное воздействие стресс-факторов разной природы. В данном исследовании в регулируемых условиях среды изучены изменения в фотосинтетическом аппарате (ФСА) проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при раздельном и последовательном действии низкой температуры (4°C) и сульфата кадмия (100 мкМ). Установлено, что воздействие только низкой температуры (7 сут) вызывало снижение интенсивности нетто-фотосинтеза, максимального квантового выхода фотосистемы II (F_v/F_m) и устьичной проводимости, но содержание хлорофиллов в листьях пшеницы увеличивалось. При этом существенно возростала холодоустойчивость растений, а следовательно, происходила адаптация ФСА к функционированию в условиях низких температур. Последовательное действие кадмия (24 ч) и низкой температуры (7 сут) еще больше снижало интенсивность фотосинтеза и устьичную проводимость, в то время как показатели F_v/F_m и содержание хлорофиллов в листьях пшеницы изменялись в меньшей степени. Кроме того, наблюдали прирост холодоустойчивости растений, который хоть и был небольшим, однако достоверно превышал исходный уровень. Следовательно, предобработка кадмием приводила к некоторому “сбою” программы холодовой адаптации, запускаемой низкой температурой. Воздействие только кадмия (7 сут) снижало интенсивность нетто-фотосинтеза, содержание хлорофиллов в листьях и их устьичную проводимость, но не влияло на показатель F_v/F_m . При этом холодоустойчивость растений также возростала, видимо, как следствие “включения” механизмов кросс-адаптации. Последовательное действие низкой температуры (24 ч) и кадмия (7 сут) усиливало негативное влияние тяжелого металла на ФСА пшеницы, значительно снижая интенсивность фотосинтеза, устьичную проводимость листьев, а также содержание в них хлорофиллов. Кроме того, холодоустойчивость растений увеличивалась лишь при предобработке холодом, а в дальнейшем под действием кадмия уменьшалась до исходного уровня. Показано, что характер ответной реакции растений на действие стресс-факторов зависел не только от их природы, но и определялся типом предобработки при последовательном их применении.

Ключевые слова: низкая температура, кадмий, последовательное действие, холодоустойчивость, фотосинтетический аппарат, устьичная проводимость, *Triticum aestivum* L.

DOI: 10.31857/S0002188122080087

ВВЕДЕНИЕ

На растения в процессе их жизненного цикла действуют факторы внешней среды, сочетание которых может быть различным. Северные реги-

оны нашей страны отличаются своими особенностями, а именно, неблагоприятными температурными условиями, с одной стороны, и возможным загрязнением почв кадмием вблизи промышленных городов, с другой стороны. Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов (ТМ), который изменяет процессы фотосинтеза,

¹ Работа выполнена в рамках государственных заданий Министерства науки и высшего образования РФ (темы № FMEN-2022-0004 и 121040800153-1).

дыхания, нарушает водный обмен и минеральное питание, замедляя рост и развитие растений [1–8]. Существенное воздействие на растительный организм оказывает и низкая температура. Многие холодостойкие растения, в том числе озимые злаки, хорошо приспособлены к ней. В условиях холода такие растения реализуют комплекс адаптивных реакций, затрагивающих фотосинтетический аппарат (ФСА), высоко чувствительный к любым изменениям внешней среды [9–15]. Под влиянием низкой температуры отмечено адаптивное торможение роста и снижение фотосинтеза, происходит ряд ультраструктурных перестроек в клетках листьев, изменяется соотношение фотосинтетических пигментов и др. [16–19]. В то же время большая часть приспособительных механизмов, которые растения используют для поддержания своей жизнеспособности, являются общими, т.е. неспецифическими [9, 20, 21]. Универсальность этих механизмов особенно актуальна в случае комбинированного сочетания факторов разной природы, например, физического (температуры) и химического (загрязнения кадмием), что может создавать дополнительные трудности для растений, усиливая стрессовую нагрузку. При этом ответная реакция растений может сильно отличаться от таковой при раздельном действии стресс-факторов [17, 18, 22–28]. Очевидно, что каждый из них по отдельности будет оказывать влияние на основные физиологические процессы в растительном организме, однако реакция растений на последовательное действие стресс-факторов разной природы исследована лишь фрагментарно [23, 29]. Особую важность, на наш взгляд, представляют экспериментальные исследования, проводимые в регулируемых условиях, что позволяет сравнивать реакцию растений на различные типы стрессовых обработок, в том числе в субповреждающих дозах, применение которых дает возможность судить о проявлении адаптивного потенциала растений в разных условиях. Учитывая выше сказанное, цель работы – сравнительный анализ раздельного и последовательного действия стресс-факторов разной природы (низкой температуры и кадмия в субповреждающих концентрациях) на ФСА проростков озимой пшеницы.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа при рН раствора 6.2 [30] в камере искусственного климата

при температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности 15 кЛк и фотопериоде 14 ч. По достижению недельного возраста проростки в течение 7 сут подвергали раздельному и последовательному воздействию низкой закалывающей температуры (4°C) и сульфата кадмия в субповреждающей концентрации (100 мкМ) по представленной схеме, варианты:

1. 4°C – действие низкой температуры: недельные проростки пшеницы закаляли при 4°C в течение 7 сут при прочих постоянных условиях;

2. Cd → 4°C – последовательное действие кадмия и низкой температуры: недельные проростки помещали на раствор Кнопа с добавлением соли сульфата кадмия в концентрации 100 мкМ и выдерживали 24 ч при 22°C, а затем растения переносили на раствор Кнопа без кадмия и закаляли при 4°C в течение 7 сут;

3. Cd – действие кадмия: недельные проростки переносили на раствор Кнопа с добавлением соли сульфата кадмия в концентрации 100 мкМ и выдерживали в течение 7 сут при 22°C;

4. 4°C → Cd – последовательное действие низкой температуры и кадмия: недельные проростки закаляли 24 ч при 4°C, а затем перемещали на раствор Кнопа с добавлением соли сульфата кадмия в концентрации 100 мкМ и выдерживали 7 сут при 22°C.

Выбор температуры, концентрации соли металла и экспозиции воздействий основан на предыдущих исследованиях [25–27, 29].

О холодоустойчивости проростков судили по температуре (ЛТ₅₀, °C), вызывающей гибель 50% палисадных клеток паренхимы листовых высевок после их 5-минутного промораживания в термоэлектрическом микрохолодильнике “ТЖР-02/-20” (Интерм, Россия) при последовательном снижении температуры с интервалом 0.4°C [31]. Жизнеспособность клеток после промораживания определяли с помощью светового микроскопа “Микмед-2” (ЛОМО, Россия) по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Показатели СО₂-обмена анализировали с помощью установки для исследования СО₂-газообмена и водяных паров НСМ-1000 (“Walz”, Германия). В ходе экспериментов измеряли интенсивность нетто-фотосинтеза и устьичную проводимость с пересчетом на СО₂. Измерения проводили в климатической камере при температурах, соответствующих вариантам опыта (22 или 4°C).

Флуоресценцию хлорофилла *a* измеряли с помощью флуориметра MINI-PAM (“Walz”, Германия) на листьях, предварительно адаптированных

Таблица 1. Динамика холодоустойчивости пшеницы под влиянием низкой температуры (4°C), кадмия (100 мкМ) и при последовательном действии факторов

Экспозиция, ч	Тип стрессового воздействия			
	4°C	Cd → 4°C	Cd	4°C → Cd
0	-5.2 ± 0.1 ^к	-5.7 ± 0.1 ^{1*}	-5.3 ± 0.1 ^к	-6.0 ± 0.1 ^{1*}
1	-5.9 ± 0.1*	-6.1 ± 0.1*	-5.8 ± 0.1*	-6.1 ± 0.1*
5	-6.0 ± 0.1*	-7.0 ± 0.1*	-6.1 ± 0.1*	-6.0 ± 0.1*
24	-6.5 ± 0.1*	-7.0 ± 0.1*	-6.3 ± 0.1*	-6.0 ± 0.1*
48	-6.7 ± 0.1*	-6.9 ± 0.1*	-6.7 ± 0.1*	-5.9 ± 0.1*
72	-7.1 ± 0.1*	-6.8 ± 0.1*	-6.7 ± 0.1*	-5.9 ± 0.1*
96	-7.4 ± 0.1*	-6.4 ± 0.1*	-6.3 ± 0.1*	-5.6 ± 0.1*
144	-7.7 ± 0.1*	-6.2 ± 0.1*	-6.2 ± 0.1*	-5.5 ± 0.1*
168	-8.1 ± 0.1*	-5.8 ± 0.1*	-6.1 ± 0.1*	-5.4 ± 0.1

Примечание. ^к – исходный уровень, ¹ – экспозиция растений на растворе кадмия или при 4°C в течение 24 ч, * – статистически значимые отличия от исходного уровня. То же в табл. 3, 4.

к темноте в течение 15 мин. Максимальный квантовый выход фотосистемы II (F_v/F_m) рассчитывали по общеизвестным формулам [32].

Суммарное содержание хлорофиллов $a + b$ в листьях измеряли с помощью спектрофотометра СФ-2000 (“Спектр”, Россия) в спиртовой вытяжке [33].

Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных показателей от 3 до 6. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. При обработке результатов исследования использовали программу Microsoft Excell 2007. В таблицах и на рисунках представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. В статье обсуждаются величины, достоверно различившиеся при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Действие низкой температуры 4°C. Воздействие низкой закалывающей температуры 4°C (7 сут) приводило к стойкому приросту холодоустойчивости пшеницы, которая начинала возрастать уже в первые часы опыта (табл. 1). В дальнейшем она продолжала расти и на 7-е сут закалывания более чем на 50% превышала исходный уровень (табл. 2). Этот процесс сопровождался рядом изменений в ФСА пшеницы. Например, уже в первые часы холодого воздействия происходило резкое ингибирование фотосинтеза, который немного стабилизировался к концу эксперимента (рис. 1а). Кроме того, максимальный квантовый выход фотосистемы II (F_v/F_m) несколько уменьшался под влиянием холода (табл. 3), оставаясь на 7-е сут опыта на уровне ≈90% от исходного (табл. 2). Отметим также, что суммарное

содержание хлорофиллов в листьях пшеницы продолжало увеличиваться на протяжении практически всего периода низкотемпературного закалывания (табл. 4). Вместе с тем, устьичная проводимость листьев снижалась уже в первые часы действия низкой температуры, немного стабилизируясь на заключительном этапе охлаждения (6–7-е сут) (рис. 1б).

Последовательное действие кадмия и низкой температуры Cd → 4°C. Предобработка растений сульфатом кадмия (100 мкМ; 24 ч) вызывала достоверный прирост холодоустойчивости клеток листьев (табл. 1). В дальнейшем при переносе растений в условия охлаждения при 4°C (7 сут) она продолжала нарастать в течение первых суток, но к концу опыта снижалась, хотя и превышала исходный уровень (табл. 1). В то же время

Таблица 2. Количественная оценка изменения некоторых физиологических показателей проростков пшеницы в зависимости от стрессового воздействия. % от контроля

Показатель	Тип стрессового воздействия			
	4°C	Cd + 4°C	Cd	4°C + Cd
Холодоустойчивость	156	112	115	102
Фотосинтез	45	35	82	60
Максимальный квантовый выход ФС II, F_v/F_m	88	91	103	91
Содержание хлорофиллов $a + b$	108	95	91	87
Устьичная проводимость	50	40	84	56

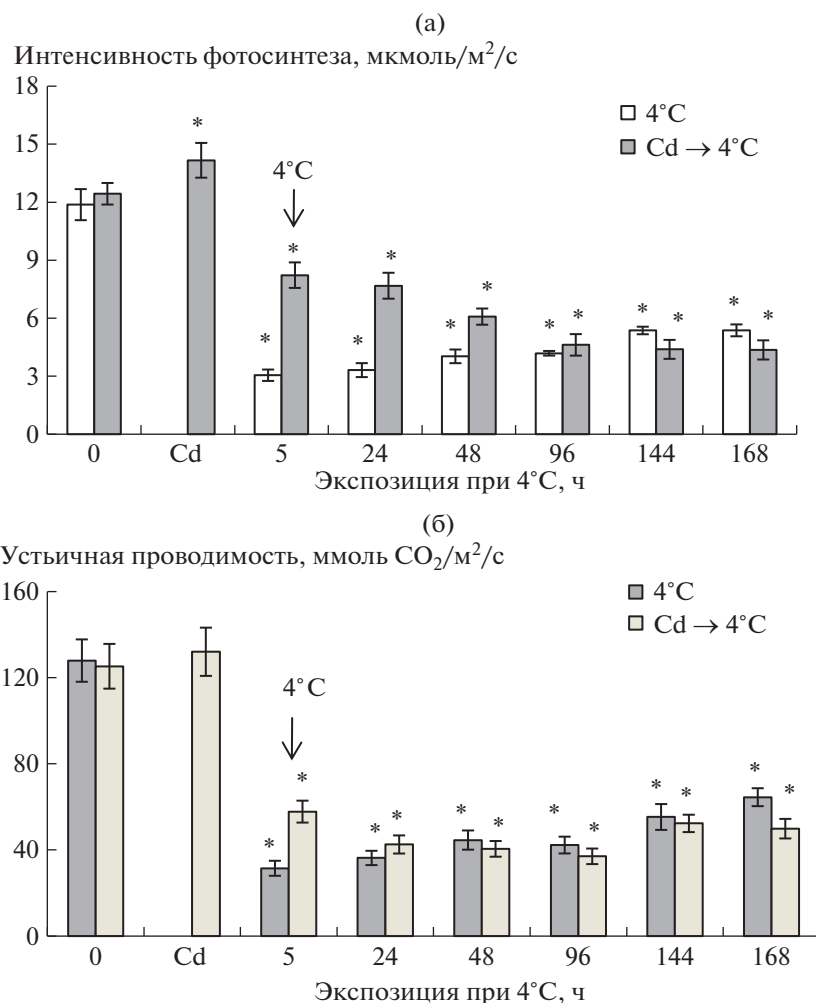


Рис. 1. Интенсивность нетто-фотосинтеза (а) и устьичная проводимость (б) листьев проростков пшеницы под влиянием низкой температуры (4°C) и при последовательном действии кадмия и низкой температуры (Cd → 4°C).

предобработка кадмием несколько увеличивала фотосинтетическую активность растений, а также “смягчала” ингибирующее действие холода на этот показатель в первые 2-е сут низкотемпературного воздействия (рис. 1а). Последовательное

действие кадмия и холода вызывало снижение показателя F_v/F_m (табл. 3), но лишь на 9% (табл. 2), а также стимулировало некоторое повышение суммарного содержания хлорофиллов в листьях пшеницы в течение первых суток опыта (табл. 4).

Таблица 3. Динамика максимального квантового выхода ФС II (F_v/F_m) в листьях пшеницы под влиянием низкой температуры (4°C), кадмия (100 мкМ) и при последовательном действии факторов

Экспозиция, ч	Тип стрессового воздействия			
	4°C	Cd → 4°C	Cd	4°C → Cd
0	0.74 ± 0.01 ^к	0.72 ± 0.01 ¹	0.74 ± 0.01 ^к	0.68 ± 0.01 ^{1*}
5	0.73 ± 0.01	0.70 ± 0.01	0.75 ± 0.01	0.70 ± 0.01
24	0.69 ± 0.02*	0.64 ± 0.02*	0.77 ± 0.01*	0.72 ± 0.01
48	0.70 ± 0.02*	0.60 ± 0.01*	0.76 ± 0.01	0.73 ± 0.01
72	0.63 ± 0.02*	0.60 ± 0.01*	0.77 ± 0.01*	0.73 ± 0.01
96	0.62 ± 0.02*	0.59 ± 0.01*	0.76 ± 0.01	0.74 ± 0.01
168	0.65 ± 0.01*	0.67 ± 0.01*	0.76 ± 0.01	0.67 ± 0.02*

Таблица 4. Динамика содержания хлорофиллов $a + b$ (мг/г сырой массы) в листьях пшеницы под влиянием низкой температуры (4°C), кадмия (100 мкМ) и при последовательном действии факторов

Экспозиция, ч	Тип стрессового воздействия			
	4°C	Cd → 4°C	Cd	4°C → Cd
0	1.96 ± 0.02 ^к	2.04 ± 0.02 ¹	1.96 ± 0.02 ^к	2.02 ± 0.01 ¹
5	1.98 ± 0.04	2.12 ± 0.01*	1.99 ± 0.02	2.05 ± 0.02
24	2.12 ± 0.04*	2.12 ± 0.01*	2.11 ± 0.01*	2.11 ± 0.01*
48	2.06 ± 0.01*	1.91 ± 0.01*	2.12 ± 0.01*	2.12 ± 0.01*
72	2.12 ± 0.02*	1.99 ± 0.01	2.06 ± 0.02*	1.93 ± 0.02
96	2.19 ± 0.05*	1.89 ± 0.01*	1.97 ± 0.01	1.72 ± 0.01
168	2.12 ± 0.04*	1.86 ± 0.04*	1.79 ± 0.04*	1.71 ± 0.01*

Однако на 2–4-е сут эксперимента этот показатель снижался до исходного уровня, а на 6–7-е сут — был меньше исходных показателей (табл. 2). Отметим также, что предобработка растений пшеницы кадмием не вызывала изменений устьичной проводимости листьев, тем не менее, в условиях действия низкой температуры этот показатель резко уменьшался, оставаясь на уровне меньше исходного до конца опыта (рис. 1б).

Действие кадмия. Важно, что уже в первые часы действия кадмия (100 мкМ, 7 сут) происходил рост холодоустойчивости клеток листьев пшеницы, который продолжался в течение последующих 3-х сут и сохранялся к концу эксперимента на уровне выше исходного (табл. 1). При этом интенсивность нетто-фотосинтеза под влиянием кадмия снижалась, составляя ≈80% от исходного уровня на 6–7-е сут эксперимента (табл. 2; рис. 2а). Отметим также, что кадмий не оказывал существенного влияния на показатель F_v/F_m (табл. 3), но приводил к заметному снижению содержания хлорофиллов в листьях и устьичной проводимости листьев пшеницы (табл. 4; рис. 2б).

Последовательное действие низкой температуры и кадмия 4°C → Cd. Воздействие низкой закалывающей температуры 4°C (24 ч) на проростки пшеницы вызывало увеличение холодоустойчивости клеток листьев, которая в дальнейшем под влиянием кадмия (100 мкМ; 7 сут) постепенно снижалась до исходного уровня (табл. 1). Кроме того, предобработка холодом приводила к уменьшению интенсивности фотосинтеза листьев пшеницы, а при снятии температурного фактора этот показатель быстро (через 5 ч) восстанавливался до исходного, постепенно снижаясь на 4–7-е сут опыта (рис. 2а). Предобработка низкой температурой примерно на 10% снижала показатель F_v/F_m , и под влиянием кадмия он к концу эксперимента оставался на том же уровне (табл. 2, 3).

Более того, низкая температура достоверно не изменяла содержание хлорофиллов в листьях пшеницы, но в условиях действия кадмия количество пигментов заметно уменьшалось (табл. 2, 4). Под влиянием холода снижалась и устьичная проводимость листьев пшеницы, однако после снятия температурного фактора проводимость устьиц несколько восстанавливалась, хотя к концу эксперимента оставалась на 44% меньше исходных показателей (рис. 2б, табл. 2).

Сравнительный анализ действия низкой температуры 4°C и последовательного действия Cd → 4°C. Адаптивный ответ озимых злаков на действие низких температур достаточно неплохо изучен [17, 18, 34]. Отдельный интерес представляет сравнительный анализ реакции пшеницы на действие только низкотемпературного фактора и последовательного влияния двух факторов разной природы (кадмия и температуры). В нашем исследовании установлено, что в обоих случаях происходило увеличение холодоустойчивости растений, сопровождавшееся рядом изменений в ФСА, динамика и характер которых определялись типом стрессовой обработки.

Под влиянием только низкой температуры увеличение холодоустойчивости пшеницы началось уже в первые часы и продолжалось на протяжении всего периода закалывания (табл. 1). Одновременно наблюдали резкое ингибирование фотосинтеза и устьичной проводимости листьев (рис. 1). Отмеченные изменения являлись необходимым условием адаптации холодостойких растений и могли быть связаны с частичным закрытием устьиц и затруднением транспирации, что обеспечивало сохранение оводненности тканей растений в условиях холодостресса [10, 12, 14, 35, 36]. Стабилизация фотосинтеза и устьичной проводимости на низком, но постоянном уровне к концу закалывания, скорее всего, была обусловлена комплексом адаптивных фи-

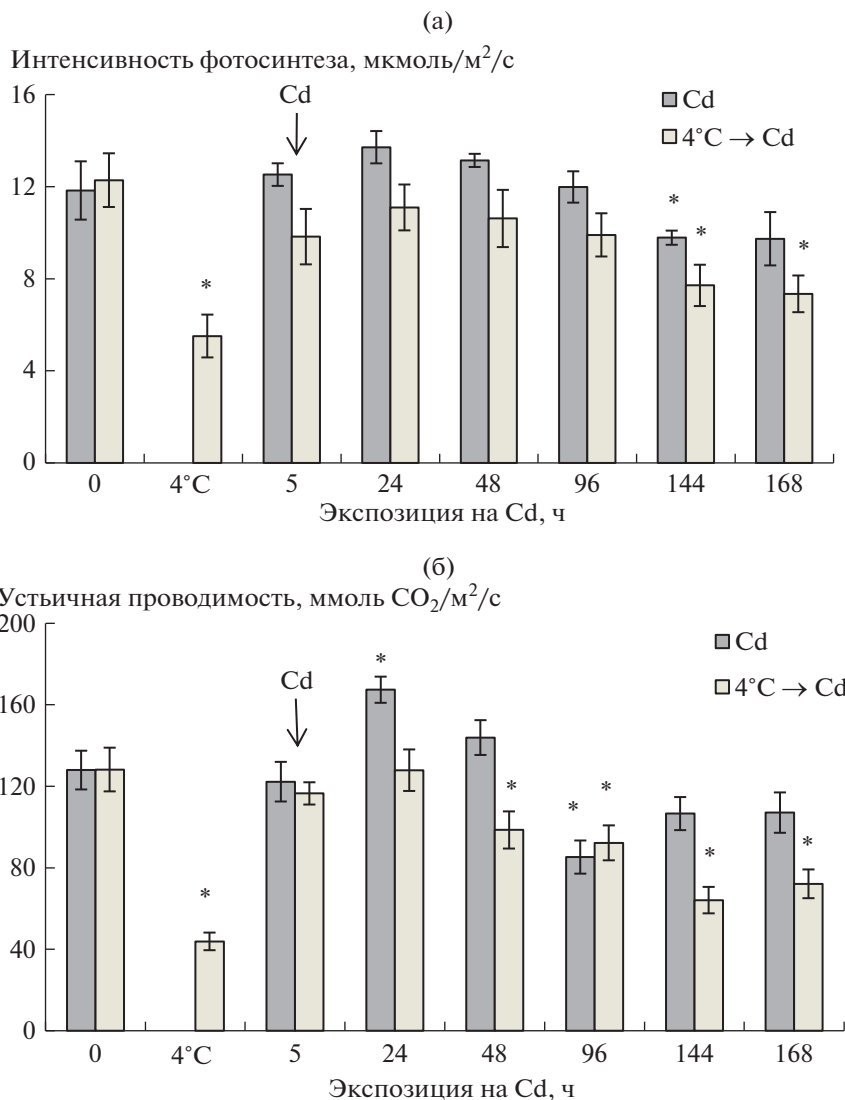


Рис. 2. Интенсивность нетто-фотосинтеза (а) и устьичная проводимость (б) листьев проростков пшеницы под действием кадмия (100 мкМ) и при последовательном действии низкой температуры и кадмия (4°C → Cd).

зиолого-биохимических реакций и структурно-функциональных изменений ФСА, которые возникают в клетках и тканях холодостойких растений под действием низкой температуры. Эти изменения включают перераспределение фотосинтетических пигментов, укрупнение клеток мезофилла, увеличение числа хлоропластов в них, формирование хлоропластов “светового” типа и др. [10, 12–15, 17–19]. Кроме того, в наших опытах показано, что под влиянием холода показатель F_v/F_m снижался лишь на 10% (табл. 2), а содержание хлорофиллов в листьях пшеницы продолжало увеличиваться (табл. 4), т.е. синтез зеленых пигментов не прекращался. Этот факт свидетельствовал о стабильности фотосинтетических мембран, которые у озимых злаков претерпевают ряд изменений под влиянием холода: су-

щественно меняется их биохимический состав и соотношение белки/липиды, насыщенные/ненасыщенные жирные кислоты [37–39].

Суточная предобработка проростков пшеницы сульфатом кадмия, предшествующая длительному (7 сут) холодовому закаливанию, изменяла ответную реакцию растений на действие температуры. Кадмий вызывал некоторое повышение холодоустойчивости пшеницы, а дальнейшее действие холода стимулировало ее дополнительный рост (табл. 1). Эти данные хорошо коррелируются с представлениями о существовании общих (неспецифических) адаптивных реакций, играющих значительную роль в процессе формирования повышенной устойчивости к стрессу [9, 20, 21]. В то же время сравнительный анализ результатов исследования показал, что

прирост устойчивости при последовательном действии кадмия и низкой температуры уступал максимальному эффекту, достигаемому в процессе низкотемпературного закаливания без предобработки (табл. 2). Тем не менее, наблюдаемый прирост холодоустойчивости превышал 10% от исходного уровня и сопровождался рядом изменений в активности ФСА. Предобработка кадмием несколько увеличивала фотосинтетическую активность растений (рис. 1а) и в первые 2-е сут холодого воздействия “смягчали” ее ингибирующее действие. Возможно, такое “смягчение” могло быть связано с известным из литературных данных явлением, когда совместное действие одного из факторов способно “нивелировать” действие другого. Например, было установлено, что засоление может увеличивать устойчивость фотосистем к тепловому шоку [40] и охлаждению [41], а совместное действие низкой температуры и кадмия вызывает меньшее увеличение проницаемости мембран, чем их раздельное действие [42].

Последовательное действие кадмия и низкой температуры приводило к торможению синтеза хлорофиллов, содержание которых в листьях пшеницы снижалось при этом типе стрессовой обработки (табл. 4). Очевидно, что в данном случае именно кадмий оказывал негативное влияние на пул фотосинтетических пигментов, поскольку известно, что он может как нарушать их синтез, так и вызывать деградацию [43–45].

Еще раз подчеркнем, что суточное воздействие кадмия перед последующим низкотемпературным закаливанием не вызывало видимых изменений устьичной проводимости CO_2 -обмена и приводило к некоторому увеличению фотосинтеза (рис. 1). Эти факты свидетельствовали о достаточном поступлении CO_2 в межклетники [27] и способности растений сохранять фотосинтетическую активность. Очевидно, что концентрация металла в пределах суточной экспозиции являлась достаточно низкой (субповреждающей), а способность злаковых задерживать большую часть металла в корневой системе [4], в свою очередь, нивелировала повреждающие эффекты кадмия на фотосинтез и устьичную проводимость.

Исходя из проведенного анализа данных, можно заключить, что при последовательном действии кадмия и температуры, ФСА растений подвергалось повышенной нагрузке, и это, с одной стороны, приводило к частичному “сбою” программы холодовой адаптации, запускаемой низкой температурой, а с другой, способствовало возникновению кросс-адаптивных перестроек,

обеспечивающих поддержание холодоустойчивости растений на повышенном уровне.

Сравнительный анализ действия кадмия и последовательного действия $4^\circ\text{C} \rightarrow \text{Cd}$. Кадмий, как один из высокотоксичных металлов, вызывает многочисленные негативные эффекты в ФСА растений [3–8]. Одной из наших задач было сравнение реакции растений только на действие кадмия и последовательное действие холода и ТМ.

Установлено, что увеличение холодоустойчивости пшеницы происходило как под влиянием только кадмия, так и при последовательном действии двух стрессоров (табл. 1). В первом случае это еще раз доказывало существование механизмов кросс-адаптации растений, а во втором, очевидно, было обусловлено действием суточной предобработки холодом. Кроме того, при раздельном и последовательном действии изученных стрессоров в ФСА пшеницы обнаружен ряд изменений, отличающихся своим характером.

Например, под влиянием только кадмия наблюдали снижение фотосинтеза и устьичной проводимости, уменьшение содержания хлорофиллов в листьях пшеницы (табл. 2, 4, рис. 2). Эти результаты коррелируют с известными данными, согласно которым снижение интенсивности фотосинтеза в присутствии кадмия является основным проявлением его токсического действия [2, 5, 8]. Уменьшение содержания хлорофиллов в листьях могло быть обусловлено, с одной стороны, прямым влиянием кадмия на их биосинтез и/или деградацию [45], с другой стороны, изменениями в ультраструктуре и биохимическом составе фотосинтетических мембран под действием ТМ [43, 44]. Исходя из наших и литературных данных, можно сделать вывод, что негативное действие кадмия на ФСА в большей степени определялось его влиянием именно на пул фотосинтетических пигментов. Известно также, что под влиянием кадмия прекращается рост клеток мезофилла и уменьшается число хлоропластов [25]. Следовательно, наблюдаемые нами изменения в ФСА пшеницы не носили адаптивный характер, как это было в случае действия низкой температуры, а являлись следствием негативного влияния тяжелого металла на ФСА.

Анализ результатов показал, что последовательное действие холода и кадмия еще в большей степени снижали фотосинтез, устьичную проводимость и содержание хлорофиллов в листьях пшеницы, а также приводили к снижению показателя F_v/F_m (табл. 2, 3, 4, рис. 2). Уменьшение последнего показателя, по всей видимости, определялось именно действием температуры, поскольку

ку величина F_v/F_m характеризует активность работы фотосистемы II, высоко чувствительной к холоду [17–19, 32]. К тому же из полученных нами данных следовало, что этот показатель под влиянием только кадмия не изменялся (табл. 3). Отметим также, что снижение фотосинтеза, устьичной проводимости и содержания хлорофиллов в случае последовательного действия холода и кадмия было ощутимо бóльшим, чем при их раздельном действии на растения. В данном случае отметили типичную закономерность “наложения” эффектов двух стрессовых факторов, когда один из них (низкая температура) только усиливал действие другого (кадмий).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что ответная реакция фотосинтетического аппарата (ФСА) растений пшеницы на действие низкой температуры, кадмия, и их последовательное применение отличалась своими особенностями в зависимости от типа стрессовой обработки. Воздействие только низкой температуры вызывало адаптивное снижение интенсивности нетто-фотосинтеза, показателя F_v/F_m и устьичной проводимости, но стимулировало увеличение содержания хлорофиллов в листьях. Предобработка кадмием вызывала еще большее снижение фотосинтеза и устьичной проводимости, а также тормозила синтез хлорофиллов в листьях. Следовательно, предобработка кадмием несколько “сбивала” программу холодовой адаптации растений, однако холодоустойчивость пшеницы оставалась на повышенном уровне, что, скорее всего, было связано с частичной реализацией адаптивных изменений в ФСА под действием холода, а также с кросс-адаптивными перестройками в нем. С другой стороны, длительное воздействие кадмия негативно влияло на интенсивность нетто-фотосинтеза, содержание хлорофиллов и устьичную проводимость листьев пшеницы, не изменяя показатель активности фотосистемы II – F_v/F_m . Предобработка холодом усиливала негативное влияние кадмия на ФСА пшеницы, вызывая большее снижение фотосинтеза, F_v/F_m , устьичной проводимости и содержания хлорофиллов в листьях. Более того, она не способствовала росту холодоустойчивости растений, а слабый прирост устойчивости, обнаруженный в первые сутки опыта, был стимулирован, вероятно, именно воздействием температуры 4°C. Таким образом, реакция растений на действие разных стрессоров зависела не только от природы действующих факторов, но и от последовательности их воздействия.

Исследования выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования ФИЦ “Карельский научный центр Российской академии наук”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф.* Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 172 с.
2. *Hasan S.A., Fariduddin Q., Ali B., Hayat B.A., Ahmad A.* Cadmium: toxicity and tolerance in plants // *J. Environ. Biol.* 2009. V. 30. P. 165–174.
3. *Gallego S.M., Pena L.B., Barcia R.A., Azpilicueta C.E., Iannone M.F., Rosales E.P., Zawoznik M.S., Groppa M.P., Benavides M.P.* Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms // *Environ. Exp. Bot.* 2012. V. 83. P. 33–46. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.04.006>
4. *Казнина Н.М., Титов А.Ф.* Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Poaceae // *Усп. совр. биол.* 2013. Т. 133. С. 588–603.
5. *Hoseini S.M., Zargari F.* Cadmium in plants: a review // *Inter. J. Fisher. Aqua. Studies.* 2013. V. 2. P. 579–581.
6. *Tran T.A., Popova L.P.* Function and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects // *Turk. J. Bot.* 2013. V. 37. P. 1–13.
7. *Мурзабаев А.Р., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М.* Защитные механизмы растений в ответ на токсическое действие ионов кадмия // *Агрохимия.* 2014. № 10. С. 83–93.
8. *Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В.* Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 194 с.
9. *Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В.* Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.
10. *Трунова Т.И.* Растение и низкотемпературный стресс // *Тимирязевские чтения.* Т. 64. М.: Наука, 2007. 54 с.
11. *Ruelland E., Zachowski A.* How plants sense temperature // *Environ. Exp. Bot.* 2010. V. 69. P. 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.011>
12. *Theocharis A., Clement Ch., Barka E.A.* Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta.* 2012. V. 235. P. 1091–1105. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-164/-y>
13. *Riban H.Z., Al-Issawi M., Fuller M.P.* Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance // *J. Plant Interact.* 2017. V. 12. P. 143–157. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1308568>
14. *Ding Ya., Shi Yi., Yang Sh.* Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants // *New Phytologist.* 2019. V. 222. P. 1690–1704. <https://doi.org/10.1111/nph.15696>
15. *Ritonga F.N., Chen S.* Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants // *Rev. Plants.* 2020. V. 9. P. 560. <https://doi.org/10.3390/plants9050560>

16. *Мирославов Е.А.* Структурная адаптация растений к холодному климату // Бот. журн. 1994. Т. 79. С. 20–26.
17. *Венжик Ю.В., Титов А.Ф., Таланова В.В., Фролова С.А., Таланов А.В., Назаркина Е.А.* Влияние пониженной температуры на устойчивость и функциональную активность фотосинтетического аппарата пшеницы // Изв. РАН. Сер. биол. 2011. № 2. С. 171–177.
18. *Венжик Ю.В., Титов А.Ф., Таланова В.В., Мирославов Е.А., Котеева Н.К.* Структурно-функциональная реорганизация фотосинтетического аппарата растений пшеницы при холодовой адаптации // Цитология. 2012. Т. 54. С. 916–924.
19. *Venzhik Yu.V., Shchyogolev S.Yu., Dykman L.A.* Ultrastructural reorganization of chloroplasts during plant adaptation to abiotic stress factors // Rus. J. Plant Physiol. 2019. V. 66. P. 850. <https://doi.org/10.1134/S102144371906013X>
20. *Чиркова Т.В.* Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. 244 с.
21. *Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А.* Физиология растений. Учебник. М.: Изд-во Абрис, 2011. Т. 1. 783 с.
22. *Гармаш Е.В., Головкин Т.К.* Влияние кадмия на рост и дыхание ячменя при двух температурных режимах выращивания // Физиология растений. 2009. Т. 56. С. 382–387.
23. *Zhao F.-Y., Liu W., Zhang S.-Y.* Different responses on plant growth and antioxidant system to the combination of cadmium and heat stress in transgenic and non-transgenic rice // J. Integrat. Plant Biol. 2009. V. 51. P. 942–950. <https://doi.org/10.1111/J1744-7909.2009.00865>
24. *Репкина Н.С., Таланова В.В., Титов А.Ф., Букарева И.В.* Реакция растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия // Тр. КарелНЦ РАН. 2014. № 5. С. 133–139. <https://doi.org/10.17076/eb229>
25. *Венжик Ю.В., Таланова В.В., Титов А.Ф., Холопцева Е.С.* О сходстве и различиях в реакции растений пшеницы на действие низкой температуры и кадмия // Изв. РАН. 2015. № 6. С. 597–604. <https://doi.org/10.7868/S0002332915060120>
26. *Венжик Ю.В., Титов А.Ф., Холопцева Е.С., Таланова В.В.* Раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия на некоторые физиологические показатели пшеницы // Тр. КарелНЦ РАН. 2015. № 12. С. 23–34. <https://doi.org/10.17076/eb248>
27. *Холопцева Е.С., Таланова В.В.* Влияние низкой температуры и кадмия на интенсивность фотодыхания проростков пшеницы // Тр. КарелНЦ РАН. 2018. № 6. С. 22–29. <https://doi.org/10.17076/e704>
28. *Губанова Т.Б., Палий А.Е.* Физиолого-биохимические аспекты морозостойкости *Olea europaea* L. // Физиология растений. 2020. Т. 67. С. 428–437. <https://doi.org/10.31857/S0015330320030100>
29. *Венжик Ю.В., Титов А.Ф., Таланова В.В.* Реакция растений пшеницы на комбинированное действие низкой температуры и кадмия // Тр. КарелНЦ РАН. 2017. № 12. С. 108–117. <https://doi.org/10.17076/eb662>
30. *Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М.* Справочник по физиологии растений Киев: Наукова думка, 1973. С. 29–30.
31. *Балагурова Н.И., Дроздов С.Н., Хилков Н.И.* Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карел. филиал АН СССР, 1982. 6 с.
32. *Maxwell K., Giles N., Johnson G.N.* Chlorophyll fluorescence – a practical guide // J. Exp. Bot. 2000. V. 51. P. 659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
33. *Lichtenthaler H.K., Wellburn A.L.* Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents // Biochem. Soc. Transact. 1983. V. 11. P. 591–593.
34. *Chang C.Y.Y., Bräutigam K., Hüner N.P.A., Ensminger I.* Champions of winter survival: cold acclimation and molecular regulation of cold hardiness in evergreen conifers // New Phytologist. 2021. V. 229. P. 675. <https://doi.org/10.1111/nph.16904>
35. *Ensminger I., Busch F., Hüner N.* Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis // Physiol. Plantarum. 2006. V. 126. P. 28. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00627.x>
36. *Fürtauer L., Weiszmann J., Weckwerth W., Nägele Th.* Dynamics of plant metabolism during cold acclimation // Inter. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. P. 5411. <https://doi.org/10.3390/ijms20215411>
37. *Mahajan Sh., Tuteja N.* Cold, salinity and drought stresses: an overview // Arch. Biochem. Biophys. 2005. V. 444. P. 139–158.
38. *Moellering E.R., Muthan B., Benning Ch.* Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane // Science. 2010. V. 8. P. 226–228. <https://doi.org/10.1126/science.1191803>
39. *John R., Anjum R.A., Sopory S.K., Akram N.A., Ashraf M.* Some key physiological and molecular processes of cold acclimation // Biol. Plantarum. 2016. V. 60. P. 603–618.
40. *Lu C.M., Qiu N.W., Wang B.C., Zhang J.H.* Salinity treatment shows no effects on photosystem II photochemistry, but increases the resistance of photosystem II to heat stress in halophyte *Suaeda salsa* // J. Exp. Bot. 2003. V. 54. P. 851–860.
41. *Cheng S., Yang Z., Wang M., Song J., Sui N., Fan H.* Salinity improves chilling resistance in *Suaeda salsa* // Acta Physiol. Plantarum. 2014. V. 36. P. 1823–1830. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1555-3>
42. *Лукаткин А.С., Баймаков Д.И., Липайкина Н.В.* Протекторная роль обработки тидиазуроном проростков огурца при действии тяжелых металлов и

- охлаждения // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 3. С. 340–348.
43. Mahajan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses // Arch. Biochem. Biophys. 2005. V. 444. P. 139–158.
44. Ali B., Qian P., Jin R., Ali S., Khan M., Aziz R., Tian T., Zhou W. Physiological and ultrastructural changes in *Brassica napus* seedlings induced by cadmium stress // Biol. Plantarum. 2014. V. 58. P. 131–138. <https://doi.org/10.1007/s10535-013-0358-5>
45. Wang Y., Jiang X., Li K., Wu M., Zhang R., Zhang L., Chen G. Photosynthetic responses of *Oryza sativa* L. seedlings to cadmium stress: physiological, biochemical and ultrastructural analyses // Biometals. 2014. V. 27. P. 389–401. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9720-0>

Separate and Consistent Effect of Stress Factors of Different Nature on Photosynthetic Apparatus of Wheat

E. S. Kholoptseva^{a,#} and Yu. V. Venzhik^b

^a*Institute of Biology – a separate division of “Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences” ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk 185910, Russia*

^b*K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology of the RAS ul. Botanicheskaya 35, Moscow 127276, Russia*

[#]*E-mail: kholoptseva@krc.karelia.ru*

Constantly changing environmental conditions, climatic fluctuations and the increasing anthropogenic load on ecosystems force researchers to apply more and more diverse approaches to understand the adaptive capabilities of plant organisms. One of these approaches is a comparative analysis of the reaction of plants to the separate and sequential effects of stress factors of different nature. In this study, under controlled environmental conditions, changes in the photosynthetic apparatus (FSA) of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) were studied under the separate and sequential action of low temperature (4°C) and cadmium sulfate (100 mcM). It was found that exposure to only low temperature (7 days) caused a decrease in the intensity of net photosynthesis, the maximum quantum output of photosystem II (F_v/F_m) and stomatal conductivity, but the content of chlorophylls in wheat leaves increased. At the same time, the cold resistance of plants increased significantly, and consequently, the FSA was adapted to function at low temperatures. Sequential action of cadmium (24 hours) and low temperature (7 days). It further reduced the intensity of photosynthesis and stomatal conductivity, while the F_v/F_m indicators and the content of chlorophylls in wheat leaves changed to a lesser extent. In addition, an increase in the cold resistance of plants was observed, which, although small, was significantly higher than the initial level. Consequently, pretreatment with cadmium led to some “failure” of the cold adaptation program triggered by low temperature. Exposure to cadmium alone (7 days) reduced the intensity of net photosynthesis, the content of chlorophylls in the leaves and their stomatal conductivity, but did not affect the F_v/F_m index. At the same time, the cold resistance of plants also increased, apparently as a consequence of the “inclusion” of cross-adaptation mechanisms. The consistent action of low temperature (24 h) and cadmium (7 days) increased the negative effect of heavy metal on wheat FSA, significantly reducing the intensity of photosynthesis, stomatal conductivity of leaves, as well as the content of chlorophylls in them. In addition, the cold resistance of plants increased only during pretreatment with cold, and subsequently decreased to the initial level under the action of cadmium. It is shown that the nature of the response of plants to the action of stress factors depended not only on their nature, but also was determined by the type of pretreatment with their sequential application.

Key words: low temperature, cadmium, sequential action, cold resistance, photosynthetic apparatus, stomatal conductivity, *Triticum aestivum* L.