

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА ГЕММО- И РИЗОГЕНЕЗ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

© 2022 г. Л. В. Ветчинникова^{а, *}, А. Ф. Титов^{б, с}

^аИнститут леса — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”,
Петрозаводск, Россия

^бИнститут биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”,
Петрозаводск, Россия

^сОтдел комплексных научных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”,
Петрозаводск, Россия

*e-mail: vetchin@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 15.12.2021 г.

После доработки 16.01.2022 г.

Принята к публикации 17.01.2022 г.

На примере культуры побегов карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hamet-Ahti *in vitro*, полученной из верхушечной меристемы вегетативных почек, проведено изучение влияния ионов кадмия (10^{-6} – 10^{-3} М) отдельно на геммогенез (формирование почек и последующее развитие из них пазушных побегов) и ризогенез (образование придаточных корней в основании побегов). Показано, что присутствие металла в питательной среде приводит не только к его накоплению в растущих побегах, но и к ингибированию геммогенеза и ризогенеза, степень которого зависела от концентрации металла. При этом опыты выявили небольшое стимулирующее влияние кадмия в низких концентрациях (10^{-6} М) на геммогенез и его отсутствие в отношении ризогенеза. Увеличение концентрации металла в питательной среде до 10^{-5} М сопровождалось угнетением роста побегов, но без нарушения процессов закладки и формирования новых органов. Одновременно с этим выявлены определенные нарушения в работе фотосинтетического аппарата, которые, в частности, нашли отражение в снижении скорости ассимиляции CO_2 и уменьшении количества фотосинтетических пигментов. Кроме того, внесение кадмия в питательную среду заметно повлияло на жирнокислотный состав липидов в побегах и активность ацил-липидных десатураз. В частности, с увеличением концентрации металла от 10^{-6} до 10^{-4} М возростала сумма насыщенных ЖК, хотя снижение индексов стеароил- (SDR), олеоил- (ODR) и линолеил- (LDR) десатуразных отношений отмечено только при использовании концентрации кадмия 10^{-4} М. Из полученных данных следует, что эффективность защитных механизмов, обеспечивающих геммогенез, выше таковых, обеспечивающих ризогенез. В целом принципиальное сходство в реакции на действие кадмия культуры тканей и органов *in vitro* и интактных растений позволяет сделать вывод, что она является удобным инструментом для решения многих вопросов, касающихся металлоустойчивости древесных растений.

Ключевые слова: *Betula pendula* var. *carelica*, *in vitro*, геммогенез, жирнокислотный состав липидов, кадмий, пигменты, ризогенез, фотосинтез

DOI: 10.31857/S0015330322040194

ВВЕДЕНИЕ

Влиянию тяжелых металлов на рост и развитие растений посвящены многочисленные работы [1–3], большинство из которых проведено с травянистыми видами. Однако в последние десятилетия все большее внимание уделяется древесным растениям поскольку они, обладая большой

биомассой, глубокой корневой системой и высокой скоростью транспирации, могут не только активно задерживать полиметаллическую пыль, но и аккумулировать содержащиеся во внешней среде тяжелые металлы. С учетом этого, например, ведутся исследования особенностей накопления тяжелых металлов в разных органах и тканях древесных растений в зависимости от их видовой принадлежности, расстояния до источника загрязнения, а также изучаются особенности воздействия конкретных тяжелых металлов на основ-

Сокращения: LDR — линолеил-десатуразные отношения (linoleoyl-desaturase ratio), ODR — олеоил-десатуразные отношения (oleoyl-desaturase ratio), SDR — стеароил-десатуразные отношения (stearoyl-desaturase ratio).

ные физиолого-биохимические процессы [4–6]. Тем не менее, следует констатировать, что работы экспериментального характера с древесными растениями в данном направлении пока немногочисленны, что прежде всего обусловлено трудностями, связанными с многолетним циклом их развития.

Новые возможности и перспективы в исследовании реакции древесных растений на действие тяжелых металлов открывает использование метода культуры клеток, тканей и органов *in vitro* [7–9], который по сравнению с *in vivo* тестированием имеет ряд преимуществ и позволяет работать с генетически однородным материалом. Кроме того, возможность управления физическими параметрами условий проведения опытов и количеством элементного состава питательной среды делает культуру тканей удобным инструментом для изучения поглощения, транспорта, аккумуляции и метаболизма различных веществ внутри растения. В частности, использование данного метода позволяет проследить влияние тех или иных ионов тяжелых металлов на морфогенез, отдельные физиолого-биохимические процессы и жизнеспособность растений.

Исходя из сказанного, целью наших исследований явилось изучение влияния кадмия, одного из наиболее широко распространенных и высокотоксичных тяжелых металлов, на геммогенез и ризогенез карельской березы в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования была культура тканей карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hamet-Ahti, которая получена из апикальной меристемы конуса нарастания вегетативных почек и является частью коллекции клонов *in vitro*, созданной нами ранее. В качестве исходного материала при изучении геммогенеза использовали сегменты побегов, состоявшие из стебля длиной около 5 мм с 1–2 листьями размером около 2 × 3 мм, а при ризогенезе – побеги, имевшие длину 2.5–3.5 см с 3–5 листовыми пластинками.

Для исследования реакции карельской березы на действие возрастающих концентраций кадмия использовали культуру тканей *in vitro*, которая позволяет раздельно изучать геммо- и ризогенез. В качестве питательной среды для геммогенеза применяли агаризованную минеральную основу по Мурасиге-Скугу, содержащую сахарозу (2.5%), цитокинин (в форме БАП) – 0.5 мг/л и витамины (мг/л): тиамин – 0.1; пиридоксин – 0.1; никотиновую кислоту – 0.5; мезоинозит – 100.0; pH 5.7–5.8. Ризогенез у побегов инициировали отдельно на питательной среде, содержащей уменьшенную вдвое минеральную основу по Мурасиге-Скуга с добавлением ауксина (в виде ИМК) – 0.1 мг/л. При проведении опытов в питательную

среду однократно вносили уксуснокислую соль кадмия (Cd^{+2}) в кратно возрастающих концентрациях: 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} или 10^{-3} М (т. е. диапазон изученных концентраций металла варьировал от природной фоновой величины до критической для жизнедеятельности растений). Выбор соли, содержащей ацетат-ионы, обусловлен их наименьшей токсичностью для растений по сравнению с другими анионами [10]. Поэтому наблюдаемый в этом случае биологический эффект почти целиком определялся действием ионов кадмия.

Контролем служили сегменты побегов, размещенные на питательной среде без добавления соли кадмия. Культивирование проводили в пробирках диаметром 16 мм в течение 30 сут при температуре 25 °С, 16-часовом световом дне, уровне освещенности – 150 мкмоль/(м² с). Об устойчивости культуры тканей карельской березы к действию кадмия судили по ее способности к геммогенезу (росту стебля, образованию листьев, их числу и площади) и ризогенезу (образованию придаточных корней у побегов и их способности к ветвлению).

Площадь листовых пластинок определяли с использованием комплекта программ Sigma Scan Pro после их сканирования.

Содержание кадмия в питательной среде (до начала проведения опытов) и в побегах (после завершения опытов) определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра AA-6800 (“Shimadzu”, Япония).

Экстракцию пигментов из побегов (суммарно листья и молодые стебли, имевшие зеленый цвет на данном этапе развития), полученных в результате геммогенеза, проводили 80% ацетоном. Содержание хлорофиллов *a*, *b* и суммы каротиноидов определяли без предварительного разделения, используя спектрофотометр СФ-26 (Россия) при длинах волн 665, 649 и 440.5 нм соответственно.

Интенсивность фотосинтеза измеряли с помощью портативной фотосинтетической системы НСМ-1000 (“Walz”, Германия). При измерении побеги находились в стерильных условиях в специально смонтированном герметичном стеклянном сосуде (100 мл) со штуцером, предназначенным для входа и выхода воздуха. Определение скорости фотосинтеза проводили при температуре 25 °С.

Липиды из меристемы почек экстрагировали смесью хлороформа и метанола в соотношении 2 : 1 по объему с добавлением воды. Метилловые эфиры ЖК анализировали на газожидкостном хроматографе “Хроматэк – Кристалл-5000 М.1” (Йошкар-Ола, Россия) с использованием капиллярной колонки HP-INNOWAX (30 м × 0.32 мм) при температурах (°С) термостата (180, изотерма), пламенно-ионизационного детектора (240) и испарителя (220), а также при скорости газа-но-

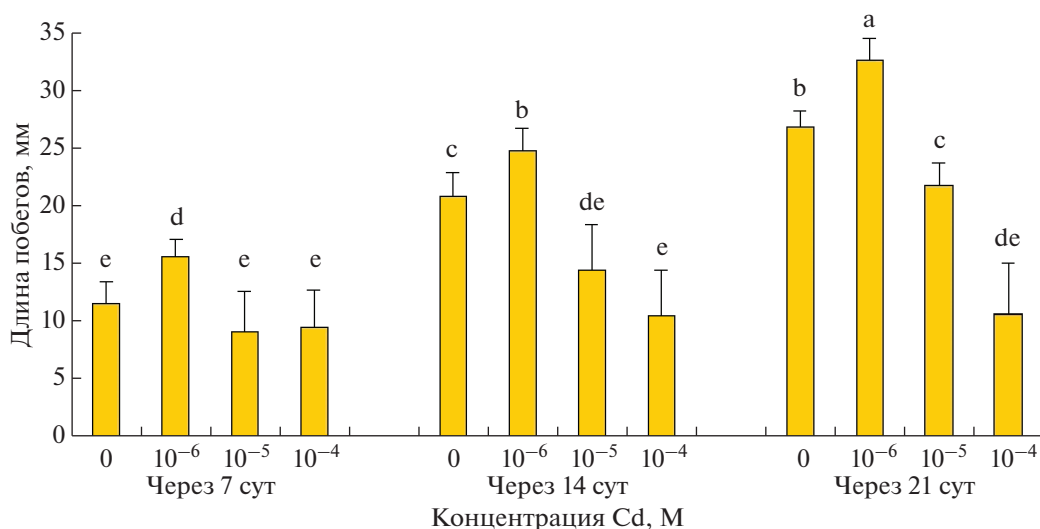


Рис. 1. Влияние кадмия на рост побегов карельской березы *in vitro*. Здесь и далее разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости $P \leq 0.05$.

сителя (азот) 50 мл/мин. Вычисляли содержание индивидуальных ЖК, а также их групп, объединенных по числу двойных связей в углеродной цепочке: насыщенные (двойные связи отсутствуют) и ненасыщенные (моноеновые, диеновые, триеновые).

Об активности ацил-липидных $\omega 9$, $\omega 6$ и $\omega 3$ десатураз судили по индексам, рассчитанным на основании содержания (в % от суммы ЖК) отдельных компонентов ЖК типа C_{18} по формулам [11] (1–3):

$$SDR = (C_{18:1}) / (C_{18:0} + C_{18:1}), \quad (1)$$

$$ODR = (C_{18:2} + C_{18:3}) / (C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3}), \quad (2)$$

$$LDR = (C_{18:3}) / (C_{18:2} + C_{18:3}), \quad (3)$$

где $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$ и $C_{18:3}$ – стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая ЖК и, соответственно, SDR – стеариол-, ODR – олеил- и LDR – линолеил-десатуразные отношения.

Оводненность тканей анализировали весовым методом, высушивая побеги в термостате до постоянного веса при 105 °С.

Весь опыт повторяли трижды в двадцатикратной биологической повторности. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью общепринятых методов. На рисунках приведены средние арифметические значения трех и более независимых опытов и их стандартные отклонения. Разницу между средними значениями считали значимой при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенное исследование показало, что кадмий оказывает существенное влияние как на геммо-

генез, так и ризогенез карельской березы, которые при использовании культуры тканей можно изучать раздельно.

Установлено, что формирование пазушных побегов в условиях *in vitro* под влиянием ионов кадмия заметно отличалось от контрольного варианта по многим параметрам, но в разной степени в зависимости от концентрации металла. В частности, через 21 сут от начала опыта отмечено небольшое стимулирующее действие кадмия в самой низкой из изученных концентраций (10^{-6} М), добавленного в питательную среду, на рост и развитие побегов, которое проявлялось уже через 7 сут от начала опыта (рис. 1). При увеличении концентрации металла в питательной среде до 10^{-5} М наблюдалось торможение роста побегов, но без нарушения процессов закладки и формирования новых пазушных почек (рис. 2а, б). Отметим, что поступление кадмия в побеги также в значительной мере зависело от его концентрации в питательной среде. Например, при увеличении концентрации металла в питательной среде с 10^{-6} до 10^{-5} М его содержание в растительной ткани изменялось от 22 до 305 мг/кг сухой массы. При использовании концентрации соли кадмия 10^{-4} М образование пазушных почек фактически прекращалось, побеги останавливались в развитии, а их длина не изменялась на протяжении всего опыта (от 7 до 21 сут). Повышение концентрации кадмия до 10^{-3} М сопровождалось побурением (некротизацией) апекса пораженных побегов и пожелтением листьев, а через 3–5 сут от начала опыта – полной гибелью растительного материала. В побегах контрольного варианта кадмий отсутствовал.

Исследования также показали, что под влиянием кадмия происходило угнетение процессов закладки и формирования новых листьев (рис. 3). Хотя при использовании его в низких концентрациях (10^{-6} , 10^{-5} М) органогенез не нарушался, а число листьев даже несколько увеличивалось. Но с повышением концентрации металла до 10^{-4} М формирование листовых пластинок прекращалось. Более того, в этом варианте опыта через 14 сут культивирования наблюдалась полная остановка геммогенеза (рис. 3а). Нарушения фотосинтетического аппарата, происходящие под влиянием кадмия, визуально проявлялись не только в изменении размеров листовых пластинок (рис. 3б), их числа, но и в их хлорозе.

Ризогенез у побегов карельской березы *in vitro* при отсутствии кадмия в питательной среде обычно наблюдался через 10–14 сут (рис. 4а). Присутствие в питательной среде кадмия в низких концентрациях (10^{-6} М) в определенной степени препятствовало формированию придаточных корней у побегов и их росту в длину: через 14 сут они были короче и тоньше по сравнению с контрольным вариантом. Кроме того, отсутствовало образование разветвлений у корней, которое в контроле наблюдалось через три недели (рис. 4б). Увеличение концентрации кадмия до 10^{-5} М оказывало заметное ингибирующее влияние на скорость образования придаточных корней и их рост в длину: они развивались с отставанием на 7 сут по сравнению с контролем. В присутствии кадмия в концентрации 10^{-4} М деление клеток корня, очевидно, полностью прекращалось, поскольку образование новых придаточных корней не происходило, а развитие побегов сильно угнеталось и через 14 сут они погибали. При концентрации кадмия 10^{-3} М, добавленного в питательную среду, корнеобразование отсутствовало, а побеги прекращали свое развитие уже в первые двое суток.

Согласно полученным данным, по абсолютным значениям содержание хлорофилла *a* в побегах *in vitro* примерно вдвое превышало содержание хлорофилла *b* независимо от концентрации кадмия. При этом внесение металла в питательную среду приводило к существенному снижению содержания пигментов в тканях побегов. Так, например, в изученном диапазоне концентраций кадмия — 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} М — суммарное содержание хлорофиллов снижалось соответственно на 10, 30 и 60% по отношению к контролю (рис. 5а).

Отмеченный в наших опытах ингибирующий эффект кадмия также отчетливо проявился в отношении скорости фотосинтеза (рис. 5б). Даже при использовании концентрации 10^{-6} М скорость ассимиляции CO_2 снижалась почти на 20%, а в варианте с концентрацией кадмия 10^{-5} М — на 50%. При применении кадмия в концентрации

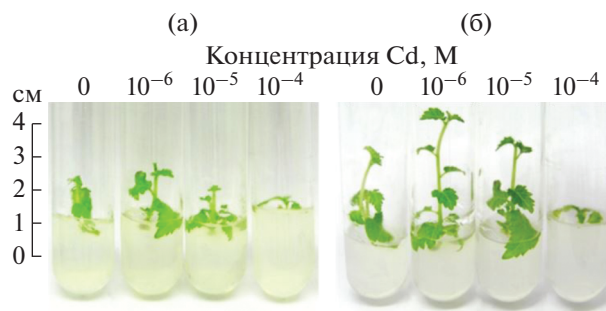


Рис. 2. Влияние кадмия на геммогенез карельской березы *in vitro* через 14 (а) и 21 (б) сут от начала эксперимента.

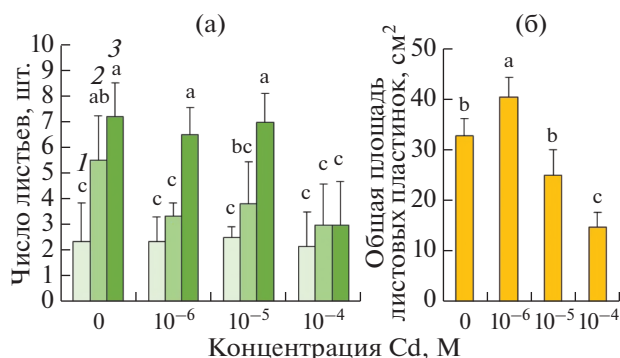


Рис. 3. Влияние кадмия на образование листьев у побегов карельской березы через 7 (I), 14 (2) и 21 сут (3) от начала эксперимента (а) и их суммарную площадь (б) *in vitro*.

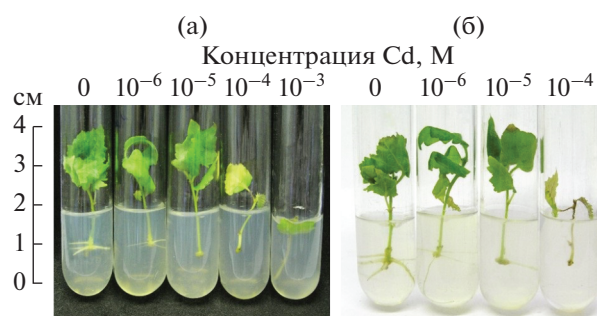


Рис. 4. Влияние кадмия на ризогенез побегов карельской березы *in vitro* через 14 (а) и 21 (б) сут от начала эксперимента.

10^{-4} М зафиксировано полное прекращение поглощения CO_2 .

Внесение кадмия в питательную среду также повлияло на жирнокислотный состав суммарных липидов и активность ацил-липидных десатураз. Если в контроле доля ненасыщенных жирных кислот была в 2.2 раза выше по сравнению с насыщенными, то под влиянием кадмия наблюда-

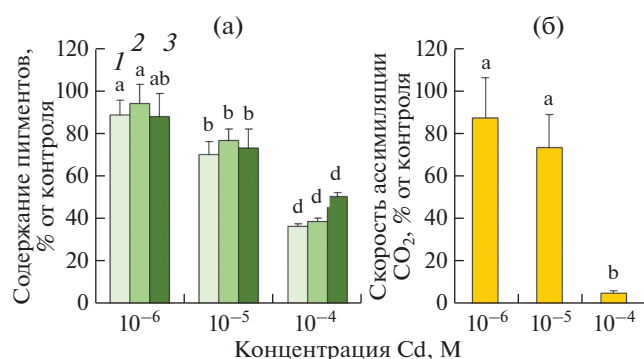


Рис. 5. Влияние кадмия на содержание хлорофилла *a* (1), хлорофилла *b* (2), каротиноидов (3) (а) и интенсивность фотосинтеза побегов (б) карельской березы *in vitro*.

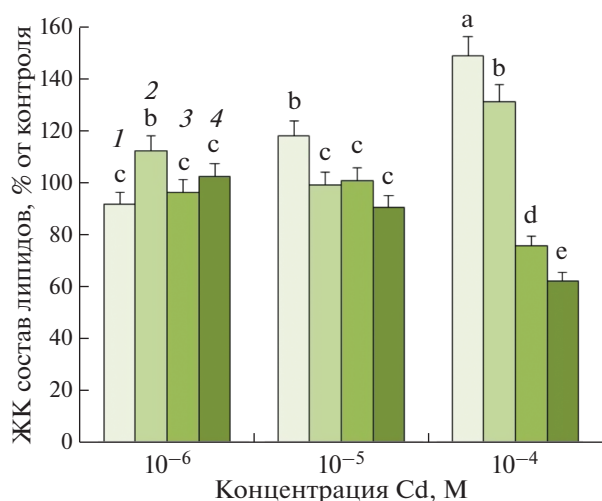


Рис. 6. Влияние кадмия на содержание насыщенных (1) и ненасыщенных – моно- (2), ди- (3) и триеновых (4) ЖК в побегах карельской березы *in vitro*.

лось достоверное увеличение последних (рис. 6). Например, при увеличении концентрации кадмия в питательной среде до 10⁻⁵ и 10⁻⁴ М содержание насыщенных ЖК в липидах увеличилось соответственно на 18 и 48% по отношению к контролю. Более того, при использовании концентрации металла 10⁻⁴ М отмечено почти полное выравни-

вание сумм насыщенных и ненасыщенных ЖК. В составе ненасыщенных ЖК значительные изменения произошли в варианте с концентрацией металла 10⁻⁴ М, где доля диеновых и триеновых ЖК уменьшилась соответственно на 23 и 39% по отношению к контролю.

Вместе с тем обнаружено небольшое стимулирующее влияние концентрации кадмия 10⁻⁶ М на активность ω9 (SDR) и ω3 (LDR) десатураз, ответственных за образование первой и третьей двойных связей, о чем свидетельствует небольшое повышение доли моноеновых и триеновых ЖК в липидах побегов карельской березы (рис. 6). Реакции ω6 (ODR) и ω3 (LDR) десатураз, ответственных за образование второй и третьей двойных связей, в ответ на действие металла при использовании концентрации 10⁻⁵ М нами не отмечено (табл. 1). Однако при добавлении кадмия в концентрации 10⁻⁴ М значения всех трех индексов снижались.

ОБСУЖДЕНИЕ

Усиливающееся загрязнение внешней среды, наблюдаемое в настоящее время почти повсеместно, делает все более актуальным поиск способов ее восстановления от действия тех или иных загрязнителей, в том числе тяжелых металлов. Поэтому в последние годы значительно повысился интерес к использованию для целей фиторемедиации древесных растений [12–14]. Некоторые авторы рекомендуют для этого березу, поскольку среди древесных видов, часто используемых для озеленения городов, именно для нее характерно повышенное накопление таких высокотоксичных тяжелых металлов как кадмий и свинец (в некоторых случаях никеля и цинка), концентрации которых часто не только превышают фоновые значения, но даже приближаются к нижнему порогу предельно допустимых для жизнедеятельности растений [4, 15]. Имеется опыт использования карельской березы для рекультивации нарушенных земель [16]. Однако при выборе древесных пород для фиторемедиации необходимо не только знать, как происходит аккумуляция тяжелых металлов в растениях конкретного вида и их

Таблица 1. Значения расчетных индексов, отражающих изменение активности ω9 (SDR), ω6 (ODR) и ω3 (LDR) десатураз в липидах побегов карельской березы *in vitro* под влиянием кадмия (через 30 сут).

Индекс десатуразной активности	Концентрация кадмия, М			
	0 (контроль)	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
SDR (ω9)	0.75	0.77	0.70	0.67
ODR (ω6)	0.89	0.89	0.89	0.80
LDR (ω3)	0.49	0.51	0.51	0.46

“метаболическая утилизация”, но и то, как они влияют на основные физиологические процессы.

Наземные растения, как известно, могут поглощать тяжелые металлы из двух источников — почвы и воздуха. На примере генетически однородного материала — культуры побегов карельской березы, полученной из верхушечной меристемы вегетативных почек, нами изучено влияние ионов кадмия (10^{-6} – 10^{-3} М) отдельно на геммогенез и ризогенез в одинаковых условиях *in vitro*, где единственным источником поступления металла была полутвердая агаризованная питательная среда. Судя по полученным данным, в варианте с добавлением наименьшей из изученных концентраций кадмия основным механизмом его поступления в растительную ткань (наряду с другими компонентами питательной среды) было активное поглощение. Можно предположить, что с возрастанием концентрации металла постепенно активизировался другой механизм — пассивное поглощение, причем, по всей вероятности, не только за счет адсорбции (в клеточной стенке и вакуоли), но и абсорбции (в результате изменения проницаемости цитоплазматической мембраны) [17–19], который при достижении критических значений становился единственным. Соотносительный вклад этих механизмов поступления кадмия в ткани растения зависел от его концентрации в питательной среде: чем она была выше, тем быстрее происходила смена активного процесса на пассивный. Особенно это заметно проявляется в культуре тканей, поскольку побеги *in vitro* не имеют корней и сосудистая система напрямую подвергается воздействию ионов кадмия, содержащегося в питательной среде.

Таким образом, в нашем случае внесение кадмия в питательную среду оказывало негативное влияние как на геммо-, так и ризогенез карельской березы в условиях *in vitro*, однако проявление токсичности металла в значительной степени зависело от его концентрации. При наименьшей из изученных концентраций (10^{-6} М) видимых нарушений не было зафиксировано: активный рост побегов наблюдался в течение всего опыта (30 сут) и их размер даже достоверно превышал таковой в контроле (в 1.2 раза). Не исключено, что значительная часть кадмия при этом задерживалась в клеточной стенке, которая считается одним из наиболее важных защитных барьеров от его токсического действия [17]. Эффект стимулирующего влияния небольших концентраций тяжелых металлов на рост растений и развитие надземной биомассы установлен для многих травянистых растений. Предполагается, что это связано с активизацией клеточного деления, изменением баланса гормонов или усилением хелатирующей способности клеток растений по отношению к ионам этого металла [2, 20, 21]. В условиях культуры тканей подобный эффект мог усиливаться за счет активного

деления клеток и их повышенной биосинтетической активности, направленной на формирование новых пазушных побегов, которые становятся в этом случае аттрагирующими центрами для транспорта питательных веществ.

В варианте с добавлением кадмия в концентрации 10^{-5} М, по всей вероятности, активное поглощение металла сопровождалось пассивным, так как рост побегов продолжался, но с отставанием примерно на 7 сут. Более того, в этом варианте опыта кадмий воздействовал не только на рост делением, но и растяжением, поскольку не происходило увеличения биомассы побегов, наблюдаемого, как правило, после неоднократного деления клеток. Так, под действием кадмия в указанной концентрации скорость роста побегов относительно контроля была ниже почти в 1.5 раза, а общая площадь листьев — в 1.6 раза.

Необходимо отметить, что имеющиеся данные о влиянии тяжелых металлов на деление клеток касаются главным образом меристем корня. Изучение их митотической активности на примере разных видов травянистых растений позволило установить, что в присутствии тяжелых металлов в высоких концентрациях замедляется интенсивность клеточных делений, что влечет за собой уменьшение количества клеток, увеличение продолжительности не только отдельных фаз, но и митотического цикла в целом [22]. Основной причиной нарушения клеточного деления считается связывание и потеря активности сульфгидрильных групп белков веретена и ферментов, ответственных за прохождение митоза [17, 23]. Помимо негативного влияния на митотическую активность клеток тяжелые металлы могут замедлять пресинтетический (G1-фаза) и постсинтетический (G2-фаза) этапы клеточного деления [24] или вызывать цитогенетические нарушения [25]. Имеются сведения о том, что некоторые металлы, такие как кадмий, могут нарушать синтез РНК и ингибировать активность рибонуклеазы [26] и даже приводить к повреждению ядра [27].

Сведения о влиянии тяжелых металлов на апикальные меристемы стебля носят единичный характер [1, 21, 28]. Скорее всего в основе негативного действия тяжелых металлов на клетки апикальной меристемы стебля лежат механизмы, аналогичные тем, которые известны в отношении меристемы корня. Например, по данным Н.М. Казниной и А.Ф. Титова [29], высокие концентрации уксуснокислого кадмия (800 и более мг/кг субстрата) приводили к остановке роста и развития конуса нарастания у однолетних злаков. Имеются также сведения о том, что тяжелые металлы накапливаются преимущественно в покровной ткани листа и не могут проходить через плазмалемму клеток обкладки пучка [17]. Однако, пока трудно сказать, действуют ли все механизмы, обеспечивающие

металлоустойчивость у интактных растений, в культуре тканей *in vitro*, поскольку защитные механизмы и барьеры, функционирующие на уровне клеток, не в состоянии полностью предотвратить попадание кадмия из питательной среды в сосудистую систему побегов, у которых отсутствует корневая система. Поэтому при применении концентраций 10^{-4} М и особенно 10^{-3} М поступление кадмия происходило исключительно путем диффузии, на что указывает практически полное прекращение геммогенеза.

Отдельно следует отметить действие кадмия на формирование листовой поверхности и фотосинтетическую активность, поскольку в условиях *in vitro* побеги являются миксотрофами и в качестве источника углерода дополнительно используют сахарозу, которая является компонентом питательной среды. Согласно полученным данным, с увеличением концентрации кадмия число листьев уменьшалось и, соответственно, снижалась общая площадь листовой поверхности у побегов.

Опыты также показали, что с увеличением концентрации кадмия в питательной среде, несмотря на стимулирующий эффект самой низкой из них (10^{-6} М) на геммогенез, происходит постепенное снижение содержания хлорофилла *a* и хлорофилла *b* в побегах карельской березы, хотя их соотношение оставалось практически неизменным даже при высоких концентрациях металла, когда их суммарное количество уменьшилось более, чем в 2 раза по сравнению с контролем. К основным причинам снижения содержания зеленых пигментов в присутствии тяжелых металлов относят подавление биосинтеза хлорофилла, усиление процесса их деградации, нарушение ультраструктуры хлоропластов [1, 23, 30].

Отметим, что несмотря на зафиксированное выше небольшое стимулирующее влияние низких концентраций кадмия в изолированной культуре побегов даже в варианте с применением металла в концентрации 10^{-6} М наблюдалось достоверное снижение не только суммы хлорофиллов, но и скорости фотосинтеза, что говорит о том, что металл даже в таких концентрациях может довольно легко поступать в клетки и накапливаться в хлоропластах, оказывая на них токсическое действие. По-видимому, кадмий снижает активность ключевых ферментов фотосинтеза: РубисКО и ФЕП-карбоксилазы [2, 23, 30]. Считается, что наиболее чувствительной к ионам металлов является ФС II, о чем свидетельствует изменение целого ряда параметров флуоресценции хлорофилла и замедление скорости электронного транспорта. Судя по литературе, снижение скорости ассимиляции CO_2 в присутствии тяжелых металлов связано не только с функциональными, но и со структурными изменениями в фотосинтетическом аппарате, в частности, с уменьшением числа гран и тилако-

идов в хлоропластах, изменением структуры мембран и снижением их протяженности, увеличением количества пластоглобул [1, 19].

В последние годы появились работы, направленные на изучение жирнокислотного состава липидов и их влияния на фотосинтетический аппарат, включая ФС II и ФС I, комплексы которых встроены в липиды тилакоидной мембраны хлоропластов, представленные в основном ненасыщенными ЖК [31, 32]. В наших опытах внесение кадмия в питательную среду в концентрации 10^{-6} и 10^{-5} М не сказывалось на активности $\omega 6$ (ODR) и $\omega 3$ (LDR) ацил-липидных десатураз, которые обеспечивают обогащение липидов ненасыщенными ЖК. Однако при применении концентрации кадмия 10^{-4} М наблюдалось резкое увеличение содержания насыщенных ЖК, что, по всей вероятности, сопровождалось определенными нарушениями в структуре и функциях клеточных мембран. Добавим, что наиболее существенные изменения при этом произошли в гликолипидах, где значения индекса ODR снизились вдвое, а доля линоленовой кислоты уменьшилась в 8 раз (данные не приводятся).

Интересен вопрос о влиянии тяжелых металлов на водный обмен, так как многие авторы рассматривают его нарушение как одну из главных причин их фитотоксичности [33]. Однако в наших опытах этот фактор не оказывал какого-либо влияния, поскольку внутри стеклянных сосудов, в которых выращивается культура тканей, поддерживалась относительно стабильная влажность воздуха, о чем, в частности, свидетельствуют достаточно высокие значения оводненности тканей побегов независимо от концентрации металла в питательной среде (86–89%).

Считается, что у интактных растений тяжелые металлы влияют на корневую систему, замедляя ее рост и развитие. При инициации ризогенеза (*in vitro* проводится отдельно от геммогенеза в несколько другой по составу агаризованной питательной среде) физиологический барьер для тяжелых металлов в культуре тканей, в отличие от интактных растений, образуется из меристематических клеток, расположенных в основании побегов. Например, при концентрации кадмия 10^{-6} М придаточные корни формировались довольно активно, но они были заметно тоньше и практически не ветвились. С увеличением концентрации металла до 10^{-5} М наблюдали не только уменьшение числа вновь образованных корней в основании побегов, но и отставание ризогенеза на 7 сут. Добавим, что после однократного внесения кадмия в питательную среду и переноса растений из условий *in vitro* в *ex vitro*, ингибирующее действие металла резко снижалось, а укорененные растения вполне нормально росли и развивались. Только использование кадмия в концентрациях 10^{-4} М и

особенно 10^{-3} М приводило к необратимому нарушению ризогенеза и гибели побегов в условиях культуры тканей.

В целом из полученных данных следует, что торможение роста побегов является общим проявлением негативного влияния кадмия. Однако характер и сила воздействия кадмия на геммо- и ризогенез побегов в культуре тканей различаются и определяются его содержанием в питательной среде. При этом в небольших концентрациях кадмий может даже в незначительной степени стимулировать геммогенез, но в то же время не оказывает заметного влияния на ризогенез у побегов. Также как в случае с интактными растениями, негативное влияние металла прежде всего связано с его прямым действием на деление, а затем и растяжение клеток. Принципиальное сходство в реакции на действие ионов кадмия интактных растений и культуры клеток и тканей *in vitro*, свидетельствует о возможности ее более широкого использования при решении многих вопросов, касающихся металлоустойчивости древесных растений. При этом культура тканей *in vitro* позволяет изучать реакцию побегов и корней на воздействие тяжелых металлов раздельно, что важно в плане понимания того, как происходит метаболизация тяжелых металлов в разных органах древесных растений, и какими конкретно физиолого-биохимическими изменениями она сопровождается.

Авторы выражают глубокую благодарность Т.Ю. Кузнецовой за помощь в проведении ряда экспериментов.

Определение тяжелых металлов выполнено с использованием оборудования Центра коллективного пользования “Аналитическая лаборатория” Института леса КарНЦ РАН Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ФИЦ “Карельский научный центр Российской академии наук” (Институт леса КарНЦ РАН – № 121061500082-2; Институт биологии КарНЦ РАН – № FMEN-2022-0004 и Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Tumov A.F., Kaznina N.M., Talanova G.F.* Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 194 с.
2. *Singh S., Parihar P., Singh R., Singh V.P., Prasad S.M.* Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics // *Front. Plant Sci.* 2016. V. 6. P. 1143. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>
3. *Hasan M.K., Cheng Y., Kanwar M.K., Chu X.-Y., Ahammed G.J., Qi Z.-Yu.* Responses of plant proteins to heavy metal stress – a review // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1492. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01492>
4. *Кулагин А.А., Шагуева Ю.А.* Древесные растения и биологическая консервация промышленных загрязнителей. Москва: Наука, 2005. 190 с.
5. *Kosiorek M., Modrzewska B., Wyszowski M.* Levels of selected trace elements in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), silver birch (*Betula pendula* L.), and Norway maple (*Acer platanoides* L.) in an urbanized environment // *Environ. Monit. Assess.* 2016. V. 188. P. 598. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5600-0>
6. *Железнова О.С., Черных Н.А., Тобратов С.А.* Цинк и кадмий в фитомассе древесных растений лесных экосистем: закономерности транслокации, аккумуляции и барьерных механизмов // *Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности.* 2017. Т. 25. С. 253.
7. *Bonet A., Lelu-Walter M.A., Faugeron C., Gloaguen V., Saladin G.* Physiological responses of the hybrid larch (*Larix × eurolepis* Henry) to cadmium exposure and distribution of cadmium in plantlets // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016. V. 23. P. 8617. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6094-6>
8. *Nawrot-Chorabik K., Woodward S., Grad B.* Influence of heavy metal stress on embryogenic callus tissues of *Abies nordmanniana*: physiological and biochemical responses // *Phyton (Horn).* 2018. V. 58. P. 155. [https://doi.org/10.12905/0380.phyton58\(2\)-2019-0155](https://doi.org/10.12905/0380.phyton58(2)-2019-0155)
9. *Wiszniewska A., Muszynska E., Kolton A., Kaminska I., Hanus-Fajerska E.* *In vitro* acclimation to prolonged metallic stress is associated with modulation of antioxidant responses in a woody shrub *Daphne jasmine* // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2019. V. 139. P. 339. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01688-2>
10. *Калинин М.И.* Корневоедение: Учеб. пособие. Киев: УМК ВО, 1989. 195 с.
11. *Alaudinova E.V., Mironov P.V.* Scotch pine: membrane lipids metabolism of bud live tissues // *Russian Forestry Journal.* 2011. № 4. P. 17.
12. *El-Khatib A.A., Barakat N.A., Youssef N.A., Samir N.A.* Bioaccumulation of heavy metals air pollutants by urban trees // *Int. J. Phytoremediation.* 2020. V. 22. P. 210 <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1652883>
13. *Hrkic Ilic Z., Pajevic S., Borisev M., Lukovic J.* Assessment of phytostabilization potential of two *Salix* L. clones based on the effects of heavy metals on the root anatomical traits // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020. V. 27. P. 29361. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09228-8>
14. *Levei L., Cadar O., Babalau-Fuss V., Kovacs E., Torok A.I., Levei E.A., Ozunu A.* Use of black poplar leaves for the biomonitoring of air pollution in an urban agglomeration // *Plants.* 2021. V. 10: 548. <https://doi.org/10.3390/plants10030548>

15. Кузнецова Т.Ю., Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. Аккумуляция тяжелых металлов в различных органах и тканях березы в зависимости от условий произрастания // Труды КарНЦ РАН. Сер. Экологические исследования. 2015. № 3. С. 68.
16. Соколов А.И. Повышение ресурсного потенциала таежных лесов лесокультурным методом. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2016. 178 с.
17. Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. // Russ. J. Plant Physiol. 2006. V. 53. P. 257. <https://doi.org/10.1134/S1021443706020178>
18. Ramos I., Esteban E., Lucena J.J., Garate A. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction // Plant Science. 2002. V. 162. P. 761. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00017-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00017-1)
19. Zayadan B.K., Sadvakasova A.K., Aktukhanova N.R., Balouch K., Bauenova M.O., Matorin D.N., Timofeev N.P., Kokocinski M. Effect of cadmium ions on some biophysical parameters and ultrastructure of *Ankistrodesmus* sp. B-11 cells // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 845. <https://doi.org/10.1134/S1021443720040196>
20. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдунен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 172 с.
21. Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Zhukovskaya N.V., Schat H. Cadmium tolerance and accumulation in excluder *Thlaspi arvense* and various accessions of hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* // Russ. J. Plant Physiol. 2015. V. 62. P. 837. <https://doi.org/10.1134/S1021443715050131>
22. Anjum N.A., Gill S.S., Gill R., Hasanuzzaman M., Duarte A.C., Pereira E., Ahmad I., Tuteja R., Tuteja N. Metal/metalloid stress tolerance in plants: role of ascorbate, its redox couple, and associated enzymes // *Protoplasma*. 2014. V. 251. P. 1265. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0636-x>
23. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. Т. 2. Москва: изд-во Юрайт, 2016. 459 с.
24. Pena L.B., Barcia R.A., Azpilicueta C.E., Mendez A.A., Gallego S.M. Oxidative post translational modifications of proteins related to cell cycle are involved in cadmium toxicity in wheat seedlings // Plant Sci. 2012. V. 96. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.008>
25. Demchenko N.P., Kalimova I.B., Demchenko K.N. Effect of nickel on growth, proliferation, and differentiation of root cells in *Triticum aestivum* seedlings // Russ. J. Plant Physiol. 2005. V. 52. P. 220. <https://doi.org/10.1007/s11183-005-0034-5>
26. Shah K., Dubey R.S. Cadmium elevates level of protein, amino acids and alters activity of proteolytic enzymes in germinating rice seeds // Acta Physiol. Plant. 1998. V. 20. P. 189.
27. Liu D., Jiang W., Gao X. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic // Biol. Plant. 2003. V. 47. P. 79.
28. Kozhevnikova A.D., Seregin I.V., Schat H. Accumulation of nickel by excluder *Thlaspi arvense* and hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* upon short-term and long-term exposure // Russ. J. Plant Physiol. 2020. V. 67. P. 303. <https://doi.org/10.1134/S1021443720020089>
29. Казнина Н.М., Титов А.Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Poaceae // Успехи современной биологии. 2013. Т. 133. С. 578.
30. Maleva M.G., Nekrasova G.F., Borisova G.G., Chukina N.V., Ushakova O.S. Effect of heavy metal on photosynthetic apparatus and antioxidant status of elodea // Russ. J. Plant Physiol. 2012. V. 59. P. 190. <https://doi.org/10.1134/S1021443712020069>
31. Hernandez M.L., Cejudo F.J. Chloroplast lipids metabolism and function. A redox perspective // Front. Plant Sci. 2021. V. 12: 712022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.712022>
32. Jimbo H., Yuasa K., Takagi K., Hirashima T., Keta S., Aichi M., Wada H. Specific incorporation of polyunsaturated fatty acids into the sn-2 position of Phosphatidylglycerol accelerates photodamage to Photosystem II under strong light // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22: 10432. <https://doi.org/10.3390/ijms221910432>
33. Kholodova V., Volkov K., Abdeyeva A., Kuznetsov V. Water status in *Mesembryanthemum crystallinum* under heavy metal stress // Environ. Exp. Bot. 2011. V. 71. P. 382. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.007>