

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ СТРОНЦИЯ НА БИОМЕТРИЧЕСКИЕ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ПШЕНИЦЫ

Пиняскина А. В.^{1,2}, Пиняскина Е. В.^{1,2}, Гаджиева И. Х.²

¹ФГБУН Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского научного центра Российской академии наук, 367025, Махачкала, Россия (367025, Махачкала, ул. М. Гаджиева, 45), e-mail: elpin1@rambler.ru, ²ГОУ ВПО Дагестанский государственный университет, 367000, Махачкала, Россия (367025, Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а), e-mail: 79604157406@yandex.ru

Изучено влияние различных концентраций солей стронция на всхожесть, ростовые показатели пшеницы и изменение числа корней. Отмечено негативное воздействие практически на все исследуемые показатели. Были исследованы флуоресцентные характеристики фотосинтетических пигментных комплексов изогенных линий пшеницы с. «Мироновская 808» к солям стронция. Показано, что инкубация проростков пшеницы в растворах SrCl₂ подавляла ростовые процессы, снижала интенсивность фотосинтеза. В постстрессовый период фотосинтез усиливался. Анализ индукционных кривых флуоресценции хлорофилла всех сортов (Rht 9, 13, 17) показал, что на ранних стадиях токсическое действие Sr в исследованных концентрациях проявляется не только в подавлении электронного транспорта ФСII, но и в уменьшении степени энергизации фотосинтетических мембран. Начальные процессы развития токсического действия Sr связаны со снижением эффективности световых реакций фотосинтеза.

Ключевые слова: растения, фотосинтез, флуоресценция, тяжелые металлы

EFFECT THE STRONTIUM SALTS FOR BIOMETRIC AND FLUORESCENT INDICATORS AND WHEAT

Pinyaskina A.V., Pinyaskina E.V., Gadzhieva I.K.

¹Precaspian Institute of Biological Resources of Dagestan Scientific, Center RAS, ²Dagestan State University, e-mail: elpin1@rambler.ru,

²Dagestan State University, 367000, Makhachkala, Russia, Gadzhiev Street, building 43- a, e-mail: 79604157406@yandex.ru

The effect of different concentrations of strontium salts on germination, growth indicators and the change of wheat roots studied. The negative impact on almost all the studied parameters revealed. Fluorescent characteristics of photosynthetic pigment complexes isogenic lines of wheat variety "Mironovskaya 808" salts of strontium were investigated. It is shown that incubation of wheat seedlings in solutions SrCl₂ inhibited the growth processes, reduce intensity of photosynthesis. Photosynthesis intensified in post-stress period. Analysis of chlorophyll fluorescence induction curves all grades (Rht 9, 13, 17) showed that in the early stages of the toxic effect of Sr in the concentrations studied is manifested not only in the suppression of PSII electron transport, but also to reduce the degree of energization of photosynthetic membranes. Initial development processes Sr toxic effect associated with decreased efficiency of light reactions of photosynthesis.

Keywords: plants, photosynthesis, fluorescence, heavy metals

В последнее время усиливается антропогенное загрязнение окружающей среды, связанное в первую очередь с поступлением тяжелых металлов в основные биогеохимические цепи. Изучение воздействия тяжелых металлов на растения привлекает в последнее время все большее внимание в связи с поступлением загрязнителей и в пищевые цепи [6]. Проблема усугубляется тем, что в отличие от других промышленных отходов ТМ, в том числе и соли стронция не разлагаются и уровень их содержания в среде со временем возрастает. Сведения о токсичности стронция для растений неоднозначны [4]. Исследования стрессовых реакций, вызванных действием солей стронция, имеют практическое и фундаментальное зна-

чение, поскольку связано с изучением механизмов адаптации и устойчивости растений к тяжелым металлам.

Цель нашей работы - исследование действия тяжелых металлов на биометрические параметры пшеницы и флуоресцентные показатели фотосинтетической активности.

Методы и объекты исследования

В качестве объектов были использованы изогенные линии пшеницы Rht 9, Rht 13, Rht 17 сорта «Мироновская 808».

Семена пшеницы проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге в вегетационной камере (23/21°C день/ночь; относительная влажность 70%; постоянная аэрация раствора). На 3 сутки после проклевывания проростки переносили в контейнеры с керамзитом. Семена были выращены в растворах хлорида стронция с концентрациями $1 \cdot 10^{-4}$ Моль/л, $1 \cdot 10^{-5}$ Моль/л, $1 \cdot 10^{-6}$ Моль/л. Контрольные образцы были выращены на воде. Измерения проростков пшеницы производились на 5, 10 и 15 сутки после проклевывания. Учитывались темпы прорастания, общую всхожесть, прирост побегов, количество корней и длину главного корня. Количество повторностей 7-10. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов стандартных программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6. Достоверность различий между парными значениями оценивали по t – критерию Стьюдента при $p < 0.05$.

Параметры флуоресценции хлорофилла листьев измеряли с помощью флуориметра MINI-PAM (Pulse Amplitude Modulation) Yeinz Walz GmbH, (Германия) методом амплитудной импульсной модуляции света.

Перед измерением побеги были адаптированы к темноте в течение 10 мин. В ходе экспериментов регистрировали следующие параметры флуоресценции: F_0 — интенсивность флуоресценции хлорофилла в адаптированных к темноте образцах при действии зондирующих импульсов возбуждающего света; F_m — интенсивность флуоресценции хлорофилла во время действия 0.8 с насыщающей вспышки света, восстанавливающей первичные хинонные акцепторы Q_a до Q_A^* ; Y - эффективность процессов фотосинтеза; qP и qN - коэффициенты химического и нехимического фототушения флуоресценции, NPQ - параметр нехимического фототушения флуоресценции.

Для возбуждения флуоресценции хлорофилла используется импульсная модуляция красного света, источником которого служит «красный» светодиод (LED), максимум излучения при длине волны 650 нм. Продолжительность импульсов 3 мкс модуляционная частота 0,6 или 20 кГц. В так называемом режиме укороченной вспышки (burst-mode) вспышки продолжительностью 0,2 сек. чередуются с периодами темноты 0,8 сек. Свет светодиода проходит через фильтр (Balzers DT Cyan, special), с максимумом пропускания 650 нм и оставляющий небольшой участок спектра более 700 нм. Флуоресценция регистрируется с помощью

трехслойного полупроводникового фотодиода (PIN-фотодиод) при длине волны более 700 нм, благодаря наличию длинноволнового фильтра (RG 9, Schott).

Интенсивность $0,15 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР; Источником насыщающих световых импульсов и постоянного актиничного освещения служит миниатюрная галогенная лампа 8 Вт /20 Вт (Bellaphot. Osram).

Результаты исследований и обсуждение

Наши исследования показали, что во всех образцах соли стронция снижали всхожесть (рис.1). Наиболее подверженной к действию солей стронция оказалась высокорослая линия Rht 13. Всхожесть не превышала 50% при всех разведениях (см.рис.1). У линии Rht 9 при концентрации стронция 10^{-4} всхожесть семян совпадала с контрольной, при концентрациях 10^{-5} и 10^{-6} всхожесть составляла 80% от контрольной. У семян линии Rht 17 всхожесть при всех разведениях была стабильной и составляла $\approx 81\%$.

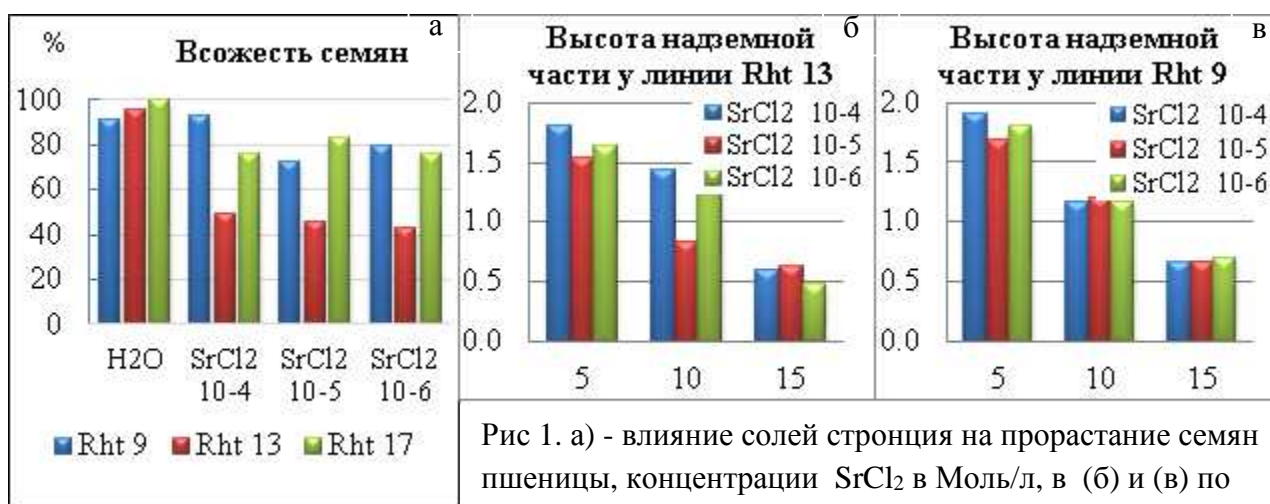


Рис 1. а) - влияние солей стронция на прорастание семян пшеницы, концентрации SrCl_2 в Моль/л, в (б) и (в) по оси ординат - сутки

Одним из видимых симптомов действия стронция на изогенные линии пшеницы - нарушение роста и морфогенеза исследуемых растений. Мы провели морфометрические исследования проростков на 5, 10 и 15 сутки инкубации в растворах SrCl_2 . Отмечено, что на 5 сутки ростовые показатели превышали контрольные значения. Длина гипокотилия превышала контрольные показатели в 2 раза. У линий Rht 9 и Rht 17 на 5 сутки прирост главного корня по отношению к контролю был не более 20%. У линии Rht 13 на 5 сутки наблюдали прирост в длину как надземной, так и подземной частей. Причем показатели гипокотилия превышали контрольные на 80%, а длина главного корня больше контроля на 100-130%. Измерение длины надземной части у всех линий выращенных в различных концентрациях стронция показало прирост по отношению к контролю на 5 сутки и его дальнейшее постепенное ингибирование у Rht 9 и Rht 13 (рис. 1(б) и (в)). У низкорослой линии Rht 17 на 10 сутки наблюдали резкий

скачок ростовых процессов как корневой, так и надземной части. Необходимо отметить, что концентрации, ингибирующие рост гипокотыля стимулировали рост корня в длину.

Концентрация стронция в растениях значительно превышает его содержание в почве и накапливается в больших количествах [3]. Содержание стронция в растениях, как и кальция, увеличивается на более поздних стадиях развития растений [2]. Характер накопления стронция в растениях близок к кальцию. Взаимодействие между этими элементами весьма сложно. Они могут конкурировать между собой, но стронций обычно не может заменить кальций в его биохимических функциях.

Исследуя действие солей стронция на проростки пшеницы разных линий мы работали в основном с биометрическими параметрами этих растений. Так как биометрические показатели являются результатом изменений на молекулярном уровне, было исследовано действие металла на процессы фотосинтеза. Наиболее чувствительна к ионам металлов ФС II, активность которой оценивается на основании анализа кинетики флуоресценции хлорофилла. Изменения в присутствии Sr таких параметров флуоресценции хлорофилла, как максимальный (F_m) и минимальный (F_0) выход флуоресценции (Y), переменная флуоресценция (F_v), а также квантовая эффективность ФС II (F_v/F_m), указывают на определенные нарушения в ФСА растений [5].

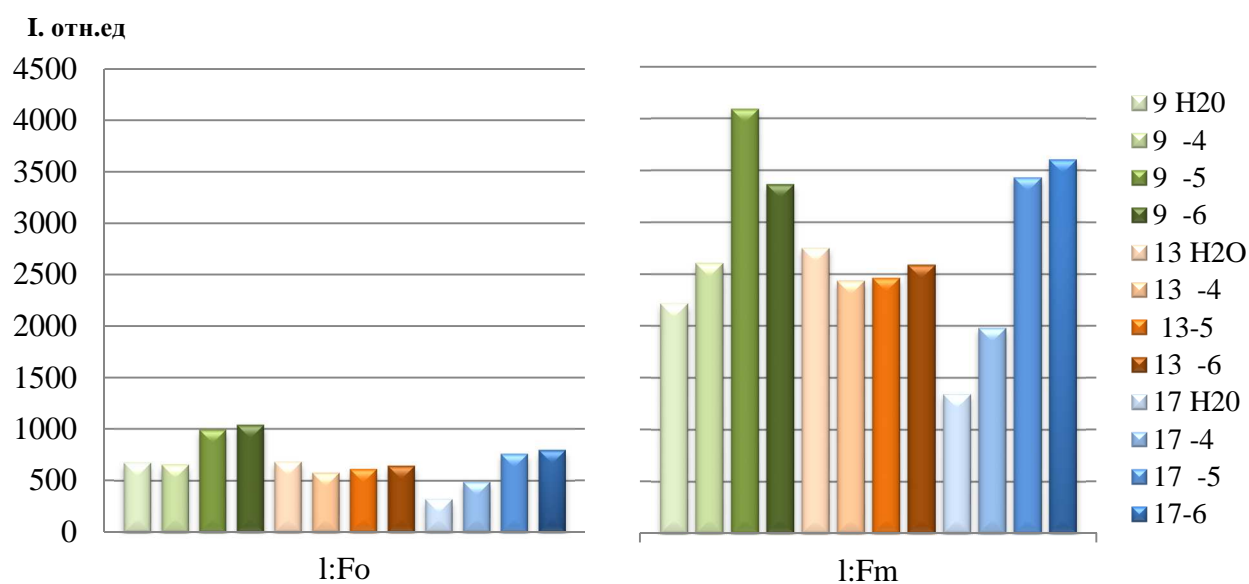


Рис.2 (а,б,в) Квантовые выходы флуоресценции (F) и максимальной флуоресценции (F_m) линий Rht 9,13,17 в зависимости от концентрации солей Sr

Полные данных о фотосинтетических реакциях можно получить из определения индукционной кинетики. При освещении зеленого листа, который был адаптирован к темноте (10 мин), интенсивность флуоресценции, как правило, претерпевает ряд немонотонных изменений (эффект Каутского). В результате исследований нами было показано, что квантовый выход флуоресценции (F) как и максимальной флуоресценции хлорофилла (F_m^*) у всех ли-

ний пшеницы при концентрации Sr 10^{-6} моль/л совпадают с контрольными (по воде) или являются максимальным (рис. 3 а,б,в). Снижение квантового выхода (F) у сорта Rht 13 указывает на фотоповреждение фотосинтезирующих систем.

Выход максимальный флуоресценции (Fm^*), измеренный после полной темновой адаптации (когда все реакционные центры открыты и все первичные акцепторы электронов окислены) у линий Rht 9 и 17 максимален, при минимальном использовании энергии на фотохимические реакции и тепловое излучение. Уменьшение Fm^* у линии Rht 13 (при всех разведениях) свидетельствует об увеличении безызлучательных потерь световой энергии - тепловая диссипация. Анализ кривых тушения флуоресценции (NPQ) показывает увеличение значений, приближаясь к контрольным (относительно воды), что свидетельствует об интенсификации процессов нефотохимического тушения, связанных с рассеиванием энергии возбуждения антенного хлорофилла в виде тепла. В целом, по рис. 2 видно, что наиболее чувствительной к Sr является линия Rht 13, даже слабая концентрация растворов металлов у которого оказывает негативное влияние на фотосинтетическую активность: уменьшение F и Fm^* , рост qP и qN . Что же касается высокой концентрации Sr, то изучение индукционных кривых флуоресценции указывает на индукцию процессов нефотохимического тушения (см. рис.3 б), изменение скорости потока электронов по электронно-транспортной цепи (ETR), связанное с модификацией мембран хлоропластов, изменением состояния тилакоидов и общим ингибированием процессов фотосинтеза.

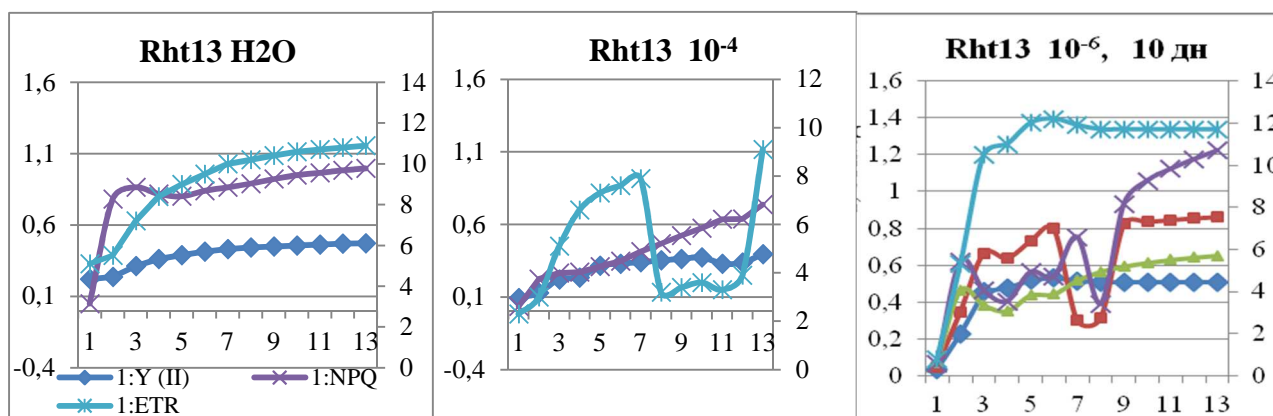


Рис.3. Индукционные кривые пшеницы линии Rht 13 - контроль (H_2O) и опыт (концентрации Sr 10^{-4} и $10^{-6}M$). По левой вертикальной оси – интенсивность флуоресценции (I , отн. ед.), по правой вертикальной – скорость электронов по ETR (μmol electrons/ $m^2 \cdot s$).

Концентрация 10^{-6} моль/л вызвала снижение фотосинтетической активности ниже исходного уровня. Нужно отметить, что индукционные параметры кинетических кривых при самой слабой концентрации у 10 дневных проростков пшеницы значительно отличались от 15 дневных: фиксировались резкие перепады величин qP , qN , ETR и Y , видимо к 15 дням про-

ростки частично адаптировались, поскольку эффективность фотохимического преобразования энергии в ФСII (квантовый выход фотосинтеза) значительно выше (см. рис.4).

Анализируя эффективность фотохимического преобразования энергии в ФСII (кван-

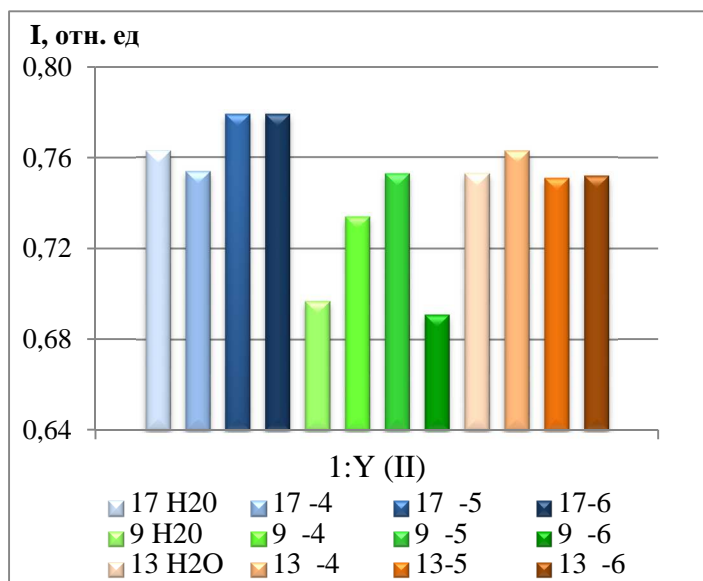


Рис. 4 Эффективность фотосинтеза у сортов Rht 9, 13, 17, выращенных при различных концентрациях SrCl₂

товый выход фотосинтеза - Y), отметим,

что наивысшее значение - 0,78 у сорта Rht 17 при концентрациях 10⁻⁵ и 10⁻⁶

моль/л, соответственно, превышая контрольные значения (Rht 17) или прирав-

ниваясь к ним (Rht 13). Несколько ниже значения у сорта Rht 9, причем если вы-

сокие концентрации стронция (10⁻⁴, 10⁻⁵) моль/л все-таки были выше контроль-

ных, то концентрация 10⁻⁶ моль/л вызва-

ла снижение фотосинтетической активности даже ниже исходного уровня. При

изучении кинетики восстановления фотосинтетического аппарата наблюдалась

та же картина: максимально быстро восстанавливались сорта Rht 17 (1мин.) и 13 (1,5 мин.), тогда как Rht 9 потребовался более

продолжительный период времени до 4 минут.

восстанавливались сорта Rht 17 (1мин.) и 13 (1,5 мин.), тогда как Rht 9 потребовался более продолжительный период времени до 4 минут.

Таким образом, в результате проведенной работы можно сделать следующие выводы: соли кадмия и стронция по-разному влияют на морфофизиологические показатели и фотосинтез растений. Степень ингибирования фотосинтеза во многом зависит от концентрации металла в субстрате. Высокие концентрации металлов влияют на ультраструктуру хлоропластов, замедляют скорость электронного транспорта, уменьшая содержание фотосинтетических пигментов и активность ферментов цикла Кальвина как за счет их прямого действия на отдельные реакции фотосинтеза, так и в результате опосредованного влияния на другие физиологические процессы.

Выводы

Выводы

Инкубирование проростков пшеницы в растворах SrCl₂ подавляло и всхожесть, и ростовые процессы во всех исследуемых концентрациях. При действии на проростки пшеницы SrCl₂ ингибирующий эффект с течением времени усиливался. Исследованные концентрации металла снижали интенсивность фотосинтеза в период их воздействия. На основании анализа индукционных кривых флуоресценции хлорофилла всех сортов можно предположить, что на ранних стадиях токсическое действие Sr в исследованных концентрациях проявляется не

токсическое действие Sr в исследованных концентрациях проявляется не

токсическое действие Sr в исследованных концентрациях проявляется не

только в подавлении электронного транспорта ФСII, но и в уменьшении степени энергизации фотосинтетических мембран.

Начальные процессы развития токсического действия Sr связаны, в первую очередь, со снижением эффективности световых реакций фотосинтеза, что и определяет в дальнейшем ухудшение продукционных свойств.

Список литературы

1. Ивашикина Н. В., Соколов О. А. Блокирование калиевых каналов клеток корня тяжелыми металлами и стронцием / Н.В. Ивашикина, О.А. Соколов // *Агрохимия*. 2006. №12. С. 47-53.
2. Ильин В.Б. Элементный химический состав растений / В.Б.Ильин // Новосибирск: Наука, 1985. 129 с.
3. Ковальский В.В. К биогеохимии стронция / В.В. Ковальский, Е.Ф. Засорина // *Агрохимия*. 1965. №4. С. 78-88.
4. Сапрыкин Ф.Я. Геохимия почв и охрана природы / Ф.Я. Сапрыкин // Л.: Недра, 1984. 231 с.
5. Maxwell K., Johnson G. Chlorophyll fluorescence-a practical guide // *Journal of Experimental Botany*. 2000. –Vol. 51. №. 345. P. 659-668.
6. Sinha P., A core-extraction distributed ad hoc routing algorithm /R Sivakumar, P Sinha, V Bharghavan// *Selected Areas in Communications, IEEE Journal*. –1999. – №17 (8), –P.1454-1465(5)

Рецензенты:

Кличханов Н.К., д.б.н., профессор кафедры биохимии и биофизики Биологического факультета ФГОУ ВО Дагестанский государственный университет, РФ, РД, г. Махачкала;

Асадулаев З.М., д.б.н., профессор, директор института ФГБУН Горный ботанический сад ДНЦ РАН, РФ, РД, г. Махачкала.