

В.І. РЕДЬКО, Т.М. НЕДЯК, О.К. ДРАГУНОВА
Інститут цукрових буряків УААН

ВПЛИВ СОЛЕЙ КАДМІЮ НА РОСЛИНИ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ У КУЛЬТУРИ
IN VITRO

. Вивчався вплив солей кадмію на ріст і розвиток бруньок цукрових буряків у культурі *in vitro*. Встановлена селективна концентрація $CdCl_2$ і $CdSO_4$ для добору стійких форм. Показана генотипова залежність реакції бруньок на іонний стрес.

Вступ. Наявність у ґрунті надлишків іонів металів, які токсично впливають на рослини, або їх нестача, якщо вони є елементами живлення, викликають іонний стрес у рослин. Особливої уваги заслуговують стреси, викликані наявністю в ґрунті іонів важких металів, таких як цинк, кадмій, мідь, ртуть.

Широке використання у промисловості призводить до різкого збільшення їх вмісту в оточуючому середовищі (в повітрі, ґрунті, воді) і, як наслідок, в тканинах тварин і рослин.

Тому актуальним є вивчення дії цих елементів на живі організми та селекція на стійкість до них.

Що стосується кадмію, то в останні роки з'явилось багато публікацій, в яких показано, що він пригнічує ріст, процеси фотосинтезу і дихання, активність ферментів, запліднюючу здатність пилку, впливає на мітоз, викликаючи припинення поділу ядер клітин внаслідок зв'язування сульфгідрильних груп в скоротливих білках веретена і ферментах клітинного поділу [1,2, 3,4,5].

Проникнення кадмію збільшується з підвищенням його концентрації у ґрунті чи живильному розчині. Так, у кукурудзи при збільшенні кількості до 5 мг/л вміст в рослинах збільшувався, а суха маса зменшувалася. Критична концентрація, при перевищенні якої рослини гинули, складала 20 мг/кг сухої маси [6].

Суттєвий вплив на проникнення кадмію в рослини має рН ґрунту. Воно більше на кислих ґрунтах [7] і зменшується з підвищенням рН, що зумовлене зниженням розчинності кадмію в ґрунтовому розчині і доступності для рослин. Тому вапнування кислих ґрунтів знижує вміст доступного для рослини кадмію [8,9].

Вивчення впливу кадмію на різні види рослин і на різні генотипи одного й того ж виду показало, що стійкість до нього генетично детермінована [10]. Це дає можливість вести селекцію на виведення сортів з низьким потенціалом накопичення важких металів, у тому числі і кадмію.

При вивченні накопичення кадмію у 23 видів рослин було встановлено, що вміст його у стеблах варіював від 1,8 до 21 мкг/г сухої маси. Концентрація у корінні була набагато більшою, ніж у надземній частині рослин [11]. Таке явище можна розглядати як один з механізмів захисту від негативного впливу тих участків, де активно протікають процеси біосинтезу. Крім того, кадмій може виводитись із процесів метаболізму завдяки включенню в склад клітинної оболонки та кристали оксалату кальцію, детоксикації внаслідок зв'язування з хелатутворюючими органічними сполуками (фітохелатинами) [12, 13], подібними до металотіонінів у тварин [14].

Вивчення клітинних механізмів стійкості до іонних стресів і встановлення їх генетичної природи дозволило розпочати дослідження з використання культури *in vitro* для створення і добору стійких форм.

В даній роботі представлені результати досліджень з вивчення впливу іонів кадмію на ріст і розвиток бруньок цукрових буряків у культурі *in vitro* та встановлення можливості добору стійких форм з допомогою селективних середовищ.

Матеріали і методи досліджень. Матеріалом служили бруньки 7 стерильних диплоїдних селекційних номерів, розмножених клонуванням *in vitro*. В експерименті використали метод прямої селекції, в якому в якості селективного агента застосовані різні концентрації (1,0; 10; 100 мг/л) солей кадмію $CdCl_2$ і $CdSO_4$, додані до модифікованого середовища Гамборга і Евелєга S_200 . Культивування експлантів проводили при температурі +25° С, 16-годинному фотоперіоді, інтенсивності освітлення 2 клк. Через 5 діб описували загальний вигляд рослин, визначали життєздатність бруньок на селективному середовищі і ті, які залишились живими, пересаджували на середовище S_{200} для клонального мікророзмноження. Через 2 тижні робили облік кількості новоутворених бруньок. Для встановлення рівня плідності оброблених розчинами солей кадмію меристем підраховували кількість хромосом у клітинах точок росту рослин після другого пасажу на живильне середовище S_{200} за стандартною методикою для цукрових буряків *in vivo* [15]. З метою збільшення клітин, які знаходяться на стадії метафази мітотичного поділу, використали передфіксаційну холододову обробку при температурі +4° С протягом 16 годин.

Результати досліджень і їх обговорення. Культивування бруньок цукрових буряків на селективних середовищах з солями кадмію показало, що їх негативна дія проявляється вже через 5 діб. Прояв її був подібним незалежно від солі і генотипу рослини. Спостерігалися хлороз і в подальшому почорніння листя, сповільнений ріст бруньок, іноді відмирання апікальних меристем, живими лишались лише латеральні.

Проте слід відмітити, що ступінь негативного впливу залежав від концентрації солей кадмію (рис. 1).

Із збільшенням вмісту в живильному середовищі вони все більше пригнічували рослини і при 100 мг/л викликали відмирання рослин всіх генотипів. Як видно з рисунку, на фоні солі $CdCl_2$ життєздатність бруньок

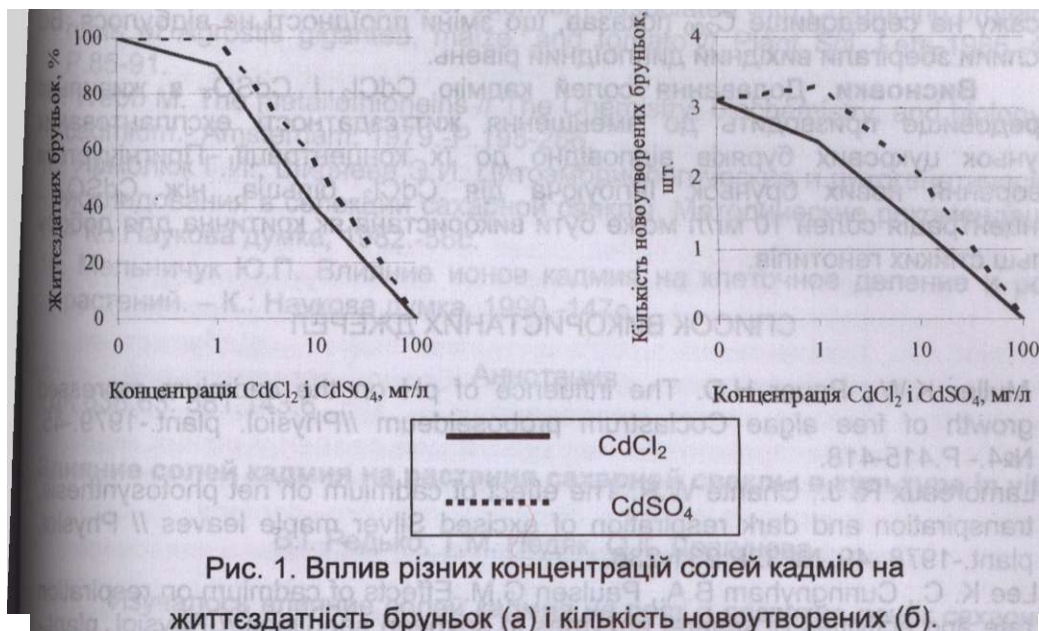


Рис. 1. Вплив різних концентрацій солей кадмію на життєздатність бруньок (а) і кількість новоутворених (б).

складала 88,9 % при 1,0 мг/л; 40% при 10 мг/л і при 100 мг/л вони всі гинули. Уразі додавання солі CdSO₄ в концентрації 1, 10, 100 мг/л життєздатними залишалось 100, 53,75%, 0 відповідно.

Одним із показників формотворення є кількість додаткових бруньок. Як показали дослідження середовище з CdCl₂ пригнічує цей процес вже при додаванні солі в кількості 1мг/л. Утворюється в середньому 2,55 бруньок на експлант (в контролі 3,1 шт.) Додавання 10 мг/л знижує їх кількість до 1,2 шт.

Сіль CdSO₄ в концентрації 1 мг/л не знижує брунькоутворюючої здатності. Вона становить 3,25 додаткових бруньок на експлант. С літературні дані про те, що й обробка насіння цукрових буряків 2,5 10⁻⁵ М розчином хлориду кадмію збільшує енергію проростання і схожість[16].

Збільшення концентрації CdSO₄ до 10 мг/л призводить до зменшення кількості бруньок, але в меншій мірі ніж CdCl₂ і становить 1,9 шт. На основі цього можна зробити висновок про більш токсичну дію CdCl₂ порівняно з CdSO₄.

В процесі вивчення дії солей кадмію на 7 селекційних номерів різного походження встановлена генотипова залежність. Найбільш стійким виявився номер 113. При 10 мг/л солі CdCl₂ в живильному середовищі бруньки цього номеру здатні були сформувати 2,3 додаткових бруньок, у той час, як найбільш нестійкий 186 тільки 0,1. При додаванні 10 мг/л CdSO₄ у номера 113 формувалось 3,4 додаткових бруньок, а в номера 186 - 0,4.

Проведений цитологічний аналіз меристем бруньок, які культивувались на селективному середовищі з солями кадмію, після другого пасажу на середовище C_{200} показав, що зміни плідності не відбулося. Всі рослини зберігали вихідний диплоїдний рівень.

Висновки. Додавання солей кадмію $CdCl_2$ і $CdSO_4$ в живильне середовище призводить до зменшення життєздатності експлантованих бруньок цукрових буряків відповідно до їх концентрації. Пригнічується утворення нових бруньок. Інгібуюча дія $CdCl_2$ більша, ніж $CdSO_4$. Концентрація солей 10 мг/л може бути використана як критична для добору більш стійких генотипів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Muller K.W., Pauer H.D. The influence of pH on the cadmium repressed growth of free algae *Coclastrum proboscideum* // *Physiol. plant.*-1979.-45, №4.- P.415-418.
2. Lamoreaux R. J., Chante W.R. The effect of cadmium on net photosynthesis, transpiration and dark respiration of excised Silver maple leaves // *Physiol. plant.*-1978.-49, № 3.-P.231-236.
3. Lee K. C., Cunngnyham B.A., Paulsen G.M. Effects of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybeen seedlings // *Physiol, plant.*-1976.-36, № 1.-P.4-6.
4. Егоркина Г.И. Фитоиндикация генетически активных загрязнителей агроландшафтов // Тез. докладов II съезда ВОГиС.- 2000.- т.2. - С. 154.
5. Ваулина Э.Н., Аникеева И.Д., Коган И.Г. Влияние ионов кадмия на деление клеток корневой меристемы *Grepis capillaris* (L.) Waller // *Цитология и генетика.*-1978.-12, № 6.-С. 497-503.
6. Iwai I., Hara T. Factors affecting cadmium uptake by the corn plant // *Soil Sci. and Plant Nutr.*-1975.-21, № 1.-P.37-46.
7. Алексеева А.А., Зорин Н.Г. Диффузия кадмия в почвах // *Почвоведение.*-1980.-31.-С.66-73.
8. Bindham F.T., Sposito G., Strong J.E. The effect of sulphate on the availability of cadmium // *Ann. Rev. Plant Physiol.* - 1986. - 141, № 2. - P. 172-177.
9. MacLean A. Cadmium in different plant species and its availability in soil as influenced by organic matter and of time // *Can.J. Soil. Sci.*-1973.-7, № 2.-P.114-123.
10. Epstein E., Jefferics R.L. The genetic basis of selective transport in plants // *Ann. Rev. Plant. Physiol.*-1964.-15, P. 169-181.
11. Jarvis S.C., Lohes L.H.P., Hopper M.J. Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots // *Plant and Soil.*-1976.-44, № 1.-P.179-191.
12. Jackson P.J., Roth E.J., Mc Clure P.R., Naranjo C.M. Selection, isolation, and characterization of cadmium-resistant *Datura innoxia* suspension cultures // *Plant Physiol.*-1984.-75.-P.914-918.

13. Rauser W.E.T. The amount of cadmium associated with Cd-binding protein in roots of *Agrostis gigantea*, maize, and tomato // *Plant Sci. Lett.*-1986.-43.-P.85-91.
14. Webb M. The metallothioneins // *The Chemistry, biochemistry, and biology of cadmium.*- Amsterdam, 1979.-P. 195-266.
15. Ярмолюк Г.И., Ширяева Э.И. Цитозембриологические и цитогенетические исследования в селекции сахарной свеклы. Методические рекомендации -К.: Наукова думка, 1982.-56с.
16. Мельничук Ю.П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. - К.: Наукова думка, 1990.-147с.

Аннотация

УДК 633.63: 581.143.6

Влияние солей кадмия на растения сахарной свеклы в культуре in vitro

В.И. Редько, Т.М. Недяк, О.К. Драгунова

Изучалось влияние солей кадмия на рост и развитие почек сахарной свеклы в культуре in vitro. Установлена селективная концентрация $CdCl_2$ и $CdSO_4$ для отбора устойчивых форм. Показана генотипическая зависимость реакции почек на ионный стресс.

Annotation

UDC 633.63: 581.143.6

The effects of cadmium salts on in vitro cultures of sugar beet plants

V. Redko, T. Nedyak, O. Dragunova

Effect of cadmium salts on the growth and development of sugar beet buds of in vitro culture was studied. Selective concentrations of $CdCl_2$ and $CdSO_4$ for the selection of resistant forms were determined. Genotypical determination of buds' reaction on the ionic stress is shown.