

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В РАСТЕНИЯХ *TRITICUM AESTIVUM* L., ИНОКУЛИРОВАННЫХ ЭНДОФИТНЫМИ ШТАММАМИ *BACILLUS SUBTILIS*

З.М. Курамшина¹, А.А. Арефьева¹, Ю.В. Смирнова¹, Р.М. Хайруллин²

¹Стерлитамакский филиала Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия, kuramshina_zilya@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, krm62@mail.ru

Аннотация. Изучено влияния кадмия на уровень пролина в растениях пшеницы, инокулированных эндофитными штаммами *Bacillus subtilis*. При наличии кадмия в почве обнаружено увеличение содержания уровня пролина в побегах растений как обработанных, так и необработанных бактериями. Максимальное повышение уровня пролина (в среднем на 60%) наблюдали при концентрации кадмия 10 мг/кг почвы. У обработанных бактериями растений уровень пролина был выше, чем у необработанных.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, пролин, кадмий, пшеница

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1074-1076

Тяжелые металлы (ТМ) могут активно поглощаться растениями, накапливаться в них, далее по пищевым цепям могут поступать в организм человека и животных и оказывать цитотоксическое, генотоксическое и мутагенное действие на живые организмы. Опасность усугубляется ещё и тем, что металлы обладают кумулятивным действием и сохраняют токсические свойства в течение длительного времени [Emamverdian et al., 2015].

В ответ на действие ТМ в клетках растений происходит накопление активных форм кислорода (АФК) и развитие окислительного стресса [Cargnelutti et al., 2006]. АФК повреждают важнейшие биополимеры (нуклеиновые кислоты, белки, липиды и углеводы) и клеточные мембраны [Немерешина и др., 2012; Morsy et al., 2012]. Антиоксидантная система защиты растений в растениях представлена высокомолекулярными (ферменты) и низкомолекулярными веществами. При истощении пула ферментов свободными радикалами антиоксидантную защиту выполняют низкомолекулярные соединения, одним из которых является пролин, участвующий в формировании устойчивости растений при стрессе [Титов и др., 2014].

Собственные механизмы защиты растений от окислительного стресса не всегда эффективны, особенно при воздействии высоких доз ТМ. Необходима дополнительная защита, в качестве которой в последнее время широко применяют биопрепараты на основе эндофитных бактерий. Эндофиты стимулируют рост растений, защищают их от воздействия стрессовых факторов, позволяют получить экологически чистую продукцию, вносят существенный вклад в плодородие почвы и при этом, в отличие от химических препаратов, не наносят вред окружающей среде [Мубинов, Хайруллин, 2006].

Целью работы явилось изучение влияния кадмия на уровень пролина в растениях пшеницы, инокулированных эндофитными штаммами *Bacillus subtilis*.

Объект исследования – сельскохозяйственная культура, пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.), сорт Омская 35. Семена перед посадкой в почву стерилизовали 70%-ным этанолом (3–5 мин.), после чего отмывали от 3 до 5 раз проточной и дистиллированной водой. Часть семян в ламинар-боксе обрабатывали бактериями *Bacillus subtilis* Cohn шт. 26Д (коллекция ВНИИСХМ, № 128) или 11ВМ (ВНИИСХМ, № 519) в концентрации

10⁶ кл/мл, остальная часть семян обрабатывалась дистиллированной водой и служила контролем. Семена инокулировали бактериями из расчёта на 1 г семян 20 мкл клеток бактерий, выдерживали в течение часа, затем высаживали в почву [Мубинов, Хайруллин, 2006]. Контрольные и инокулированные семена выращивали в вегетационных сосудах (15×15×15 см) с чернозёмной выщелоченной почвой при температуре 18–20 °С и равномерном освещении. Металл в почву вносили однократно после посева семян в виде раствора соли Cd(NO₃)₂×4H₂O с концентрацией металла 10 и 200 мг/кг почвы. Контрольные растения поливали дистиллированной водой. Отбор проб проводили одновременно со всех сосудов на 30-е сутки от начала эксперимента.

Содержание пролина определяли по модифицированной методике Г.Н. Шихалеевой и др. (2014) с помощью кислого нингидринового реактива, приготовленного без нагревания (1,25 г нингидрата + 30 мл ледяной уксусной кислоты + 20 мл 6 М Н₃РO₄) [Шихалеева и др., 2014]. Оптическую плотность продуктов реакции измеряли при длине волны 520 нм на спектрофотометре UNICO 2800 (США).

Эксперименты проводили в трёх биологических повторностях. Статистическую обработку результатов осуществляли при использовании стандартного пакета Microsoft Office Excel 2007. В таблицах представлены средние значения повторностей и стандартные ошибки. Достоверность различий между контрольными и испытуемыми вариантами оценивали по t-критерию Стьюдента при уровне значимости $P \leq 0,05$.

В результате проведенных исследований было установлено, что при выращивании растений *Triticum aestivum* L в чистой почве, без металла, показатели содержания пролина в надземной части растений, семена которых были инокулированы эндофитными бактериями шт. 26Д, были на 8,3% выше, чем у необработанных и на 10,7% выше при инокуляции шт. 11ВМ (таблица).

Таблица.

Содержание пролина в надземной части растений *Triticum aestivum* L., выращенных в почве, загрязнённой кадмием, мкмоль/г массы сырого веса

Вариант	Концентрация Cd ²⁺ в почве		
	0 мг/кг	10 мг/кг	200 мг/кг
Не обр.	152,56±2,2	250,30±2,4	224,06±2,7
Обр. <i>B. sub.</i> 26Д	165,23±1,5*	264,78±4,1*	231,29±4,6*
Обр. <i>B. sub.</i> 11ВМ	168,85±1,3*	257,54±1,6*	234,01±3,4*

***Примечание.** Различия между показателями инокулированных и неинокулированных бактериями растений достоверны при $P \leq 0,05$

При наличии кадмия в почве обнаружено увеличение содержания уровня пролина в побегах растений как обработанных, так и необработанных бактериями (табл.). Максимальное повышение уровня пролина (в среднем на 60%) наблюдали при концентрации кадмия 10 мг/кг почвы. При высоких токсических концентрациях металла (200 мг/кг) уровень пролина снижался, однако оставался в среднем выше на 40%, чем в контроле.

Пролин – гетероциклическая аминокислота, занимающая особое положение среди низкомолекулярных антиоксидантов, т.к. её концентрация у многих растений возрастает в условиях биотического и абиотического стрессового воздействия, в т.ч. и при действии ТМ. Накопление пролина, вызванное стрессом, оказывает влияние на весь метаболизм растительной клетки, что проявляется в инактивации АФК, оказании стабилизирующего действия на мембраны, уменьшении осмотического стресса, защите клеточных компонентов, ДНК, ферментов и белков от денатурации [Абрамова, 2015].

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что под

влиянием эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ в растениях происходит активация различных защитных механизмов для снижения интенсивности окислительного стресса, вызванного действием тяжелых металлов, в том числе и повышение уровня пролина.

Литература

Абрамова Э.А. Влияние различных концентраций ионов никеля на прорастание семян и формирование проростков вики: диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук. – Тула, 2015. – 134 с.

Мубинов И.Г., Хайруллин Р.М. Роль оксидаз в регуляции уровня активных форм кислорода и реакциях пшеницы на инокуляцию эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* // Сигнальные системы клеток растений: роль в адаптации и иммунитете: сборник тезисов второго международного симпозиума. – Казань, 2006. – С. 93–94.

Немерешина О.Н., Гусев Н.Ф., Петрова Г.В., Шайхутдинова А.А. Некоторые аспекты адаптации *Polygonum aviculare* L. к загрязнению почвы тяжёлыми металлами // Известия ОГУ. – 2012. – № 1–1. – С. 230–234.

Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжёлые металлы и растения. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. – 194 с.

Шихалеева Г.Н., Будняк А.К., Шихалеев И.И., Иващенко О.Л. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия: биология. – 2014. – № 1112. – С. 168–172.

Cargnelutti D., Tabaldi L.A., Spanevelloetal R.M. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings // Chemosphere. – 2006. – V. 65, No. 6. – P. 999–1006.

Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdorran F., Xie Y. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response // The Scientific World Journal. – 2015. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/756120> (дата обращения: 16.05.2017).

Kloke A., Sauerbeck D.C., Vetter H. The contamination of plants and soils with heavy metals and the transport of metals in terrestrial food chains // Changing Metal Cycles and Human Health. – 1984. – No. 28. – P. 113–141.

Morsy A.A., Salama K.H.A., Kamel H.A., Mansour M.M.F. Effect of heavy metals on plasma membrane lipids and antioxidant enzymes of *Zygophyllum* species // Eurasian Journal of Biosciences. – 2012. – No. 6. – P. 1–10.

Ruscitti M., Arango M., Ronco M., Beltrano J. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) // Brazilian Journal of Plant Physiology. – 2011. – V. 23, No. 1. – P. 15–25.

INFLUENCE OF CADMIUM IN THE PROLINE CONTENT IN PLANTS OF *TRITICUM AESTIVUM* L., INOCULATED BY ENDOPHYTIC STRAINS OF *BACILLUS SUBTILIS*

Z.M. Kuramshina¹, A.A. Arefeva¹, Yu.V. Smirnova¹, R.M. Khayrullin²

¹The Sterlitamak Branch of the Bashkir State University, Sterlitamak, Russia, kuramshina_zilya@mail.ru

²Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia, krm62@mail.ru

Abstract. The effect of cadmium on the level of proline in wheat plants inoculated with endophytic *Bacillus subtilis* strains was studied. In the presence of cadmium in the soil, an increase in the level of proline in the shoots of plants, both processed and untreated by bacteria, was found. The maximum increase in proline level (on average by 60%) was observed at a cadmium concentration of 10 mg/kg soil. In plants treated with bacteria, the level of proline was higher than in untreated ones.

Keywords: *Bacillus subtilis*, proline, cadmium, wheat