

УДК 581.1

ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ХЛОРИДА НАТРИЯ ПРИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ХРУСТАЛЬНОЙ ТРАВЫ К ИЗБЫТКУ МЕДИ

К.С. ВОЛКОВ¹, В.П. ХОЛОДОВА¹, В.В. ШВАРТАУ², Вл.В. КУЗНЕЦОВ¹

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук
127276 Москва, ул. Ботаническая, 35

²Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17

Изучены особенности формирования и функционирования адаптивных систем у растений хрустальной травы (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) в условиях совместного действия двух стрессорных факторов — CuSO_4 и NaCl . Установлено, что при наличии в среде хлорида натрия значительно снижается токсическое действие меди. При этом протекторный эффект NaCl не связан с ограничением поглощения растениями меди. Доказано, что в основе обнаруженного нами защитного эффекта NaCl лежит стабилизация водного статуса — одной из первичных физиологических мишеней токсического действия тяжелых металлов, о чем свидетельствует резкое падение осмотического потенциала клеточного сока и интенсивное накопление пролина — универсального низкомолекулярного шаперона — у растений, подвергнутых совместному действию хлорида натрия и сульфата меди.

Ключевые слова: *Mesembryanthemum crystallinum* L., медь, засоление, тяжелые металлы, кросс-адаптация, пролин, стресс, САМ-фотосинтез.

В настоящее время все больший научный и практический интерес вызывают проблемы адаптации растений к комплексному действию повреждающих абиотических факторов природного и антропогенного происхождения, например таких, как избыточное засоление, которому подвержено 20 % поверхности земного шара, и высокие концентрации тяжелых металлов (ТМ). Особое место среди ТМ занимает медь, поскольку ее содержание в почве (от 20 до 2000 мг/кг почвы) может быть результатом не только хозяйственной деятельности человека, но и естественных почвообразовательных процессов, так как она в высоких концентрациях входит в состав некоторых почвообразующих пород.

В следовых количествах медь является необходимым микроэлементом, вовлеченным во множество физиолого-биохимических процессов в живых организмах, в более высоких — становится токсичной для растений, приводит к нарушению метаболизма, интегральных физиологических функций, например таких, как фотосинтез и дыхание, следствием чего является уменьшение количества и снижение качества урожая [17, 24]. Токсичность меди во многом определяется ее способностью связываться с SH-группами белков, что приводит к изменению нативной конформации макромолекул, инактивации ферментов. Она легко меняет свой окислительно-восстановительный статус, генерируя при этом активные формы кислорода и вызывая состояние окислительного стресса [3, 18, 22].

Адаптация растений к тяжелым металлам связана с функционированием как специализированных (хелатирование, секвестрация, компартментация ТМ), так и общих механизмов устойчивости (низкомолекулярные органические стресспротекторные соединения, защитные макромолекулы, антиоксидантные системы). Однако вопрос о том, сопровождается ли адаптация растений к избыточному засолению повышением толерантности к тяжелым металлам, в частности к меди, в настоящее время остается открытым, а механизмы устойчивости растений к совместному действию двух указанных факторов практически не исследованы. Вместе с тем выяснение механизмов адаптации растений к комбинированному действию хлоридного засоления и ТМ крайне важно как с теоретической точки зрения для понимания общих механизмов устойчивости к различным экспериментальным воздействиям, так и с практической, поскольку широкомасштабное техногенное загрязнение окружающей среды NaCl и ТМ все острее ставит вопрос о поиске растений, способных активно накапливать тяжелые металлы в надземных органах [16].

В качестве такого растения мы использовали хрустальную траву (*Mesembryanthemum crystallinum* L.), которая является факультативным галофитом и характеризуется высокой устойчивостью к хлоридному засолению. Ранее мы установили, что она обладает выраженной резистентностью не только к NaCl, но и к солям меди [3], хотя для меди, по нашим данным, допустимый уровень загрязненности оказался в 100–150 раз ниже, чем об этом было заявлено ранее [20]. Основываясь на представлениях о механизмах кросс-адаптации, т.е. о способности растений повышать устойчивость к данному фактору в результате адаптации к фактору иной природы, мы предположили, что предварительная адаптация растений к NaCl сопровождается индукцией формирования общих механизмов устойчивости, функционирование которых снижает токсическое действие меди. Цель данной работы заключалась в проверке этой гипотезы.

Методика

Растения хрустальной травы (*Mesembryanthemum crystallinum* L., семейство Aizoaceae) выращивали в водной культуре в камере фитотрона при дневной и ночной температурах соответственно 23–25 и 18–20 °C. Продолжительность фотопериода составляла 12 ч при интенсивности освещения 350 мкмоль/(м²·с) натриевыми лампами ДНаЗ Reflux (фирма «Reflux», Россия). Семена высевали в кюветы с перлитом. В возрасте 4–5 недель по 3 растения высаживали в стеклянные сосуды емкостью 2 л на модифицированную питательную среду Джонсона [23], содержащую железо в нитратной форме.

Хлорид натрия вносили в питательную среду в два приема: в 1-е сутки концентрацию соли доводили до 200 мМ, во 2-е — до 400 мМ. Схема внесения сульфата меди (25 и 50 мкМ) зависела от цели эксперимента: при использовании в опыте только CuSO₄ всю необходимую дозу этой соли вносили в 1-е сутки эксперимента; в вариантах с совместным действием двух факторов (NaCl и CuSO₄) сульфат меди вносили либо вместе со второй порцией NaCl, либо (дополнительная серия опытов) на 3-и сутки эксперимента вслед за внесением второй порции NaCl. Кроме того, во второй серии опытов проводили предобработку растений

сульфатом меди. В этом случае первый раз хлорид натрия (200 мМ) вносили на 3-и сутки после внесения CuSO_4 , второй (до 400 мМ) — на 4-е сутки эксперимента. Фиксировали растительный материал во всех вариантах на 7-е сутки после последнего внесения хлорида натрия или сульфата меди (в зависимости от варианта опыта).

Массу растения (листьев и стеблей) и содержание в них воды измеряли стандартным гравиметрическим методом, фиксируя растительный материал в течение 30 мин при 90 °С и досушивая его до постоянной массы при 60 °С.

Интенсивность транспирации листьев измеряли общепринятым гравитационным методом и выражали ее в мг/(дм²·ч).

Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива [6] после экстрагирования растительных образцов (300—700 мг сырого вещества) в 5—15 мл дистиллированной воды кипячением (10 мин). Интенсивность окраски проб измеряли при 520 нм на спектрофотометре Genesis 20 (фирма «Spectronic System», США). Для калибровки использовали пролин фирмы «Sigma» (США).

Для определения осмотического потенциала клеточный сок отжимали механически с помощью ручного пресса и собирали в эппендорфовские пробирки. Измерения проводили на осмометре Osmomat 030 фирмы «Gonotec» (Германия), осмотический потенциал выражали в мегапаскалях (МПа).

Для измерения рН, буферной емкости и содержания протонов в клеточном соке использовали рН-метр Orion Research (США). Экстракт получали кипячением навески листьев (1 г) в течение 10 мин в 10 мл дистиллированной воды (при невозможности немедленного титрования экстракт хранили в замороженном виде до проведения анализа). Для определения буферной емкости экстракт титровали до рН $7,00 \pm 0,05$ малыми порциями (10—50 мкл) 10—200 мМ растворов NaOH. В случае сравнительно большой буферной емкости проб титрование начинали с высоких концентраций NaOH, потом переходили к более низким. При вычислении содержания протонов ($[\text{H}^+]$, мкэкв/г) учитывали объем и концентрацию NaOH, а также массу сырой ткани растения.

Каждый опыт повторяли не менее 3—4 раз. Анализы выполнены в трех биологических повторностях. На рисунках обозначены стандартные отклонения от среднего.

Результаты и обсуждение

Для изучения характера взаимодействия двух факторов использовали ранее подобранные нами на растениях хрустальной травы концентрации CuSO_4 — 25 и 50 мкМ [3], которые вызывали значительное ингибирование роста, но не приводили к гибели растения. При этом концентрация NaCl составляла 400 мМ — общепринятая в работах с водной культурой *Mesembryanthemum crystallinum*, поскольку соответствует условиям произрастания этих растений в естественных местообитаниях [5, 21, 23].

Прежде всего, важно было сравнить влияние CuSO_4 , NaCl или совместного действия обоих факторов на общее состояние растений и накопление ими массы.

Полученные в основной серии опытов данные показали, что при совместном действии двух изучаемых факторов у растений не обнаруживались такие характерные признаки токсического действия меди, как

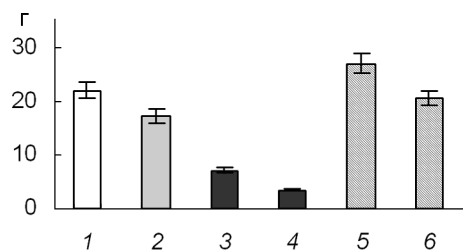


Рис. 1. Маса сырого вещества (г) растений *M. crystallinum*, 7-е сутки эксперимента. Здесь и на рис. 2—6:

1 — контроль; 2 — 400 мМ NaCl; 3 — 25 мкМ CuSO₄; 4 — 50 мкМ CuSO₄; 5 — 400 мМ NaCl + 25 мкМ CuSO₄; 6 — 400 мМ NaCl + 50 мкМ CuSO₄

резкое замедление, а при 50 мкМ CuSO₄ — полное ингибирование аккумуляции массы, появление некротических пятен, потеря тургора. В целом растения, подвергнутые совместному действию NaCl и CuSO₄, по развитию были вполне сопоставимы с растениями, выращиваемыми при наличии одного лишь NaCl (400 мМ) в питательной среде, а по уровню накопления массы даже превосходили их.

Как следует из данных, представленных на рис. 1, после 7 сут воздействия стрессоров, в конце

эксперимента масса надземных органов контрольных растений составляла в среднем 22,1 г, масса растений, выращиваемых при наличии 400 мМ NaCl — 17,3 г, выращиваемых на среде, содержащей 25 и 50 мкМ CuSO₄ на фоне 400 мМ NaCl — соответственно 27,1 и 20,7 г. Это значит, что масса растений, выращиваемых при наличии NaCl и 25 мкМ CuSO₄, была достоверно больше массы не только растений, подвергнутых действию NaCl, но и контрольных. В то же время при действии одного лишь сульфата меди — 25 и 50 мкМ масса сырого вещества растения составляла соответственно 7,1 и 3,5 г.

Представлялось весьма вероятным предположение, что снятие токсического действия CuSO₄ засолением сопряжено с ингибированием поглощения ионов меди растениями хрустальной травы, о чем свидетельствовали имеющиеся литературные данные об ограничении поглощения ионов ТМ (в частности, кадмия) в условиях засоления почвы [10, 11]. Однако ранее [1] нам не удалось обнаружить достоверных различий в уровне накопления меди листьями растений, росших в течение 7 сут на среде с CuSO₄ при наличии или в отсутствие 400 мМ NaCl, причем во всех вариантах опыта внесение CuSO₄ в среду приводило к 7—8-кратному повышению концентрации меди в листьях опытных растений по сравнению с контрольными.

Характерно, что при этом медь накапливалась главным образом в течение первых 3—7 сут эксперимента [3], тогда как последующие 7 сут экспозиции практически не влияли на ее дальнейшую аккумуляцию. Подобный временной характер аккумуляции ионов меди вместе с ингибированием роста корня и снижением обводненности надземных органов косвенно указывал на нарушение нормального функционирования корневой системы.

При длительном воздействии на растения хрустальной травы высоких концентраций меди на 7-е сутки эксперимента обнаруживалось почти трехкратное ингибирование скорости транспирации первичных листьев (рис. 2). Внесение в питательную среду 400 мМ NaCl также вызывало достоверное снижение интенсивности транспирации по сравнению с контрольными растениями, хотя степень этого ингибирования была ниже по сравнению с ингибирующим эффектом CuSO₄. Более интенсивное по сравнению с NaCl ингибирование транспирации отмечено у растений хрустальной травы также и при совместном действии обоих изучаемых факторов.

Можно допустить, что наблюдаемый нами характер изменения транспирации косвенно указывает на начало перехода растений с C_3 -типа фотосинтеза на водосберегающий САМ-путь фиксации CO_2 . В пользу этого предположения свидетельствуют многочисленные экспериментальные

данные о том, что растения хрустальной травы отвечают на действие ряда стрессоров переключением фотосинтеза на САМ-путь [5, 7, 15].

Ранее [20] было показано, что даже непродолжительное воздействие меди на растения хрустальной травы приводит к усилению экспрессии гена ключевого фермента САМ-типа фотосинтеза фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕПК). Однако приведенный факт еще не дает оснований связывать это с функционированием САМ-типа фотосинтеза в условиях действия ионов меди. Прямым доказательством перехода растений с C_3 -на САМ-тип фотосинтеза, позволяющим оценить интенсивность протекания последнего, является уровень титруемой кислотности клеточного сока. Согласно Чу и соавт. [7], основной вклад в концентрацию протонов вносит малат, на долю которого приходится 70–80 %, поэтому уровень внутриклеточного содержания протонов можно рассматривать как прямой индикатор накопления этой органической кислоты.

Полученные нами результаты подтвердили, что к концу эксперимента титруемая кислотность для растений контрольного варианта составляла 23 мкэкв/г сырого вещества, что свидетельствует об инициации функционирования САМ-типа фотосинтеза (рис. 3). Через 7 сут после внесения в питательную среду 400 мМ NaCl концентрация протонов достигала 52 мкэкв/г, что соответствует САМ средней интенсивности. Действие $CuSO_4$ значительно повышало интенсивность фотосинтеза САМ-типа; концентрация протонов в данном варианте достигала в среднем 83 мкэкв/г сырого вещества. Близкой была интенсивность САМ-типа фотосинтеза у растений, подвергнутых одновременному воздействию $CuSO_4$ и NaCl, поскольку титруемая кислотность в этом случае составляла в среднем 72 мкэкв/г сырого вещества. Обнаруженные различия в интенсивности протекания САМ в растениях хрустальной травы при воздействии одного $CuSO_4$ или совместном воздействии $CuSO_4$ и NaCl, были недостоверны.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что протекторный эффект NaCl на устойчивость растений хрустальной травы к меди нельзя объяснить ускорением перехода растений на САМ или усилением интенсивности его протекания в результате предобработки растений хлоридом натрия, поскольку прямыми измерениями уровня титруемой кис-

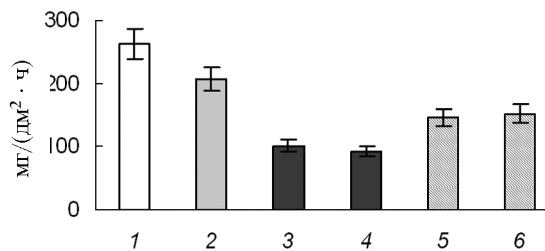


Рис. 2. Интенсивность транспирации мг/(дм²·ч) растений *M. crystallinum*, 7-е сутки эксперимента

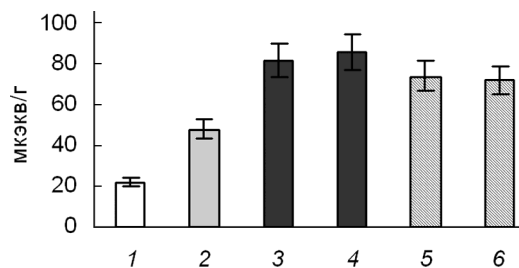


Рис. 3. Титруемая кислотность (мкэкв/г сырого вещества) клеточного сока листьев у растений *M. crystallinum*, 7-е сутки эксперимента

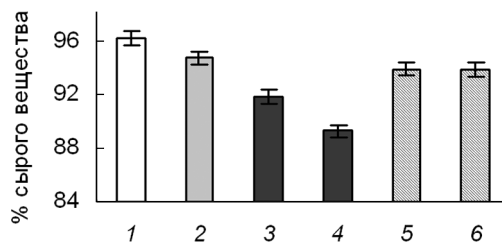


Рис. 4. Общее содержание воды (% сырого вещества) в листьях растений *M. crystallinum*, 7-е сутки эксперимента

лотности не обнаружена кардинальная интенсификация САМ-метаболизма у растений, подвергнутых действию CuSO_4 после предобработки их NaCl , по сравнению с растениями, выращиваемыми при наличии одного лишь NaCl . Тем не менее нельзя отрицать определенный вклад САМ-типа фотосинтеза как водосберегающего механизма в формирование ус-

тойчивости растений хрустальной травы к меди в условиях засоления. По-видимому, наиболее вероятным механизмом обнаруженного нами защитного действия хлорида натрия на устойчивость растений к меди является индукция предобработкой растений NaCl ряда общих защитных механизмов, повышающих устойчивость растений хрустальной травы не только к избыточному засолению, но и к повреждающему действию ТМ.

В частности известно, что интенсивная аккумуляция растением солей вызывает снижение осмотического потенциала клеточного сока и повышение водопоглотительной способности клеток корня, вследствие чего возрастает общая обводненность тканей. Поэтому в дальнейшем было целесообразно исследовать основные параметры изменения водного статуса хрустальной травы в условиях совместного действия NaCl и CuSO_4 .

Полученные экспериментальные данные подтвердили (рис. 4), что обводненность листьев растений к 7-м суткам опыта в обоих вариантах совместного действия двух факторов составляла в среднем 93,9 %, т.е. была достоверно выше обводненности листьев растений, подвергнутых воздействию CuSO_4 даже самой низкой из использованных концентраций, и практически не отличалась от обводненности листьев растений, выращиваемых при наличии одного лишь NaCl .

Более точно состояние водного статуса растений оценивают таким показателем, как относительное содержание воды (ОСВ) (рис. 5). Если для растений контрольного варианта характерны его значения ~65 %, то обработка растений опытного варианта CuSO_4 вызвала снижение ОСВ почти до 35—40 %; несколько большими были значения ОСВ у растений, подвергнутых совместному действию NaCl и CuSO_4 — до 50 %.

Помимо общей обводненности тканей и ОСВ для характеристики водного статуса важное значение имеет осмотический потенциал клеточного сока, который сильно снижается при воздействии на растения хлорида натрия. Так, осмотический потенциал клеточного сока листьев контрольных растений составлял в среднем $-0,79$ МПа (рис. 6), а после внесения в среду 400 мМ NaCl он снижался практически до -2 МПа. Осмотические потенциалы растений, подвергнутых воздействию CuSO_4 , были промежуточными между значениями осмотических потенциалов растений, выращиваемых в контрольных условиях и при засолении. Однако совместное действие двух факторов приводило к резкому снижению анализируемого показателя — в 3,8 раза у растений, обработанных NaCl и 25 мкМ CuSO_4 , и практически в 6 раз — при действии на растения NaCl и 50 мкМ CuSO_4 по сравнению с контролем.

Как видно из приведенных данных, одним из ярко выраженных ответов растений хрустальной травы на негативное действие меди является резкое изменение водного статуса, что подтверждают потеря тургора, снижение общего содержания воды и осмотического потенциала, ингибирование транспирации. Такие изменения, как было показано выше, мы отмечали и при совместном воздействии NaCl и CuSO₄, однако в этом случае они носили несколько иной характер. Так, при совместном действии NaCl и CuSO₄ снижение обводненности листьев было менее выражено, чем при действии только CuSO₄, в то время как осмотический потенциал резко снижался не только по сравнению с растениями, подвергнутыми действию лишь CuSO₄, но и по сравнению с растениями, испытывавшими солевой стресс (400 мМ NaCl). Наблюдаемое нами снижение осмотического потенциала можно рассматривать как адаптивный механизм, способствующий лучшему поглощению воды клетками корня и, как следствие, предотвращению резкого падения уровня обводненности тканей при действии на растения CuSO₄.

Одним из возможных механизмов повышения устойчивости растений к действию меди в результате их преадаптации к NaCl может быть аккумуляция совместимых осмотически активных веществ, например таких, как пролин — универсальный низкомолекулярный шаперон, обладающий полифункциональным стресспротекторным эффектом [2, 14].

Как было показано нами ранее [1], пролин быстро аккумулировался в растениях хрустальной травы в ответ на внесение в питательную среду NaCl (до 8 мкмоль/г). Однако совместное воздействие CuSO₄ и засоления вызывало более интенсивную — до 15–16 мкмоль/г аккумуляцию пролина в листьях растений.

Одним из защитных эффектов пролина является его способность к детоксикации активных форм кислорода (АФК) и тем самым снижению интенсивности окислительного стресса [2]. Ранее [3] мы доказали, что под действием меди инициируется формирование окислительного стресса у растений хрустальной травы. Накопление АФК приводит к снижению содержания хлорофилла, изменению соотношения хлорофиллов *a/b*, появлению на листьях некротических пятен, интенсификации перексидного окисления липидов, а также к повышению активности пероксидазы. Интересно, что растения, обработанные NaCl, не выявляли внешних признаков активации окислительного стресса, что могло быть следствием проявления антиоксидантной функции пролина.

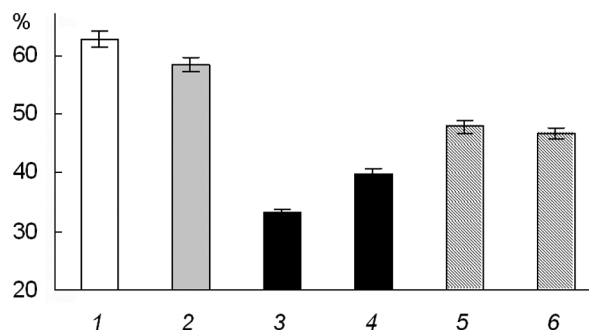


Рис. 5. Относительное содержание воды (%) в листьях растений *M. crystallinum*, 7-е сутки эксперимента

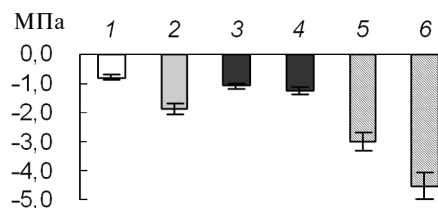


Рис. 6. Осмотический потенциал (МПа) клеточного сока листьев растений *M. crystallinum*, 7-е сутки эксперимента

Представленные данные однозначно подтверждают, что кратковременная, всего в течение 1 сут, преадаптация растений хрустальной травы к NaCl (400 мМ) снижает последующее токсическое воздействие CuSO₄ (25 и 50 мкМ). Можно ожидать, что увеличение продолжительности предобработки растений NaCl повысит степень его протекторного эффекта в условиях повреждающего воздействия ионов меди вследствие более полного формирования различных механизмов солеустойчивости, существенных для выживания растений в условиях повреждающего воздействия факторов иной природы. Однако более длительная (3 сут) предобработка растений NaCl (400 мМ) не вызывала достоверного снижения уровня накопления меди в листьях и не изменяла интенсивность транспирации, но резко снижала уровень аккумуляции пролина по сравнению с растениями, подвергнутыми более короткому (1 сут) предварительному воздействию соли. Вместе с тем при более длительной преадаптации растений к NaCl увеличивалась обводненность листьев при последующем совместном действии 400 мМ NaCl и 25 (но не 50) мкМ CuSO₄. Отсюда можно сделать вывод, что предобработка растений NaCl в течение 1 сут достаточна для индукции защитных механизмов, обеспечивающих снижение токсического воздействия меди в условиях совместного действия двух указанных факторов.

Анализ работ последних лет, посвященных этой теме [8, 9, 12], показал, что описанная выше стратегия адаптации, по-видимому, характерна прежде всего для галофитов, в то время как гликофиты в условиях совместного воздействия NaCl и ТМ подвергаются еще более интенсивному стрессорному влиянию [13, 19].

В связи с исследованием характера взаимодействия ответов растений на последовательное и одновременное влияние NaCl и CuSO₄ важно ответить на вопрос, реализуется ли обнаруженное нами защитное действие хлорида натрия после предварительной адаптации растений к CuSO₄. Полученные данные свидетельствуют, что внесение в питательную среду NaCl, спустя 3 сут после начала воздействия на растения сульфата меди, резко ингибировало аккумуляцию пролина, достоверно снижало обводненность листьев и не влияло на интенсивность транспирации по сравнению с растениями, у которых воздействию CuSO₄ предшествовала 1–3-суточная адаптация к NaCl. Отсюда следует, что предварительное воздействие на растения хрустальной травы сульфата меди не только не усиливало защитный эффект NaCl при последующем совместном действии двух факторов, а напротив, снижало адаптационный потенциал растений, что выражалось, например, в резком снижении аккумуляции пролина и обводненности тканей.

Таким образом, установлено, что предварительная адаптация растений к хлориду натрия значительно снижает последующее токсическое воздействие солей меди, что проявляется прежде всего в поддержании водного статуса растений в условиях совместного действия двух факторов и в интенсивной аккумуляции пролина, обладающего полифункциональным стресспротекторным действием. Наоборот, предварительное воздействие на растения сульфата меди препятствует реализации защитного эффекта NaCl в условиях совместного действия засоления и тяжелых металлов. Представленные данные могут быть использованы при разработке технологии рекультивации земель, загрязненных несколькими токсическими веществами различной природы. Не последнее место

среди таких территорий занимают площади с высокой степенью засоления и загрязнения ТМ.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке совместного научного проекта РФФИ/НАНУ 56-04-10(У)/международного гранта 10-04-90456-Укр_а «Ионом растений и его регуляция».

1. Волков К.С., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Адаптация растений к меди снижает токсический эффект меди // Докл. РАН. — 2006. — **411**. — С. 270—274.
2. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. — 1999. — **46**, № 2. — С. 305—320.
3. Холодова В.П., Волков К.С., Кузнецов Вл.В. Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной травки и возможность их использования в целях фиторемедиации // Там же. — 2005. — **52**, № 6. — С. 848—858.
4. Шевякова Н.И., Нетроница И.А., Аронова Е.Е., Кузнецов Вл.В. Распределение Cd и Fe в растениях *Mesembryanthemum crystallinum* при адаптации к Cd-стрессу // Там же. — 2003. — **50**. — С. 756—763.
5. Adams P., Nelson D.E., Yamada S. et al. Tansley Review No 97. Growth and development of *Mesembryanthemum crystallinum* (Aizoaceae) // New Phytol. — 1998. — **138**. — P. 171—190.
6. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant Soil. — 1973. — **39**, N 1. — P. 205—207.
7. Chu C., Dai Z., Ku M.S.B., Edwards G.E. Induction of Crassulacean acid metabolism in the facultative halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* by abscisic acid // Plant Physiol. — 1990. — **93**. — P. 1253—126
8. Demirezen D.Y., Redd B. Effects of salinity on growth and nickel accumulation capacity of *Lemna gibba* (Lemnaceae) // J. Hazard Mater. — 2006. — **147**. — P. 74—77.
9. Fitzgerald F.J., Caffrey J.M., Nesaratnam S.T., McLoughlin P. Copper and lead concentrations in salt marsh plants on the Suir Estuary, Ireland // Environ Pollut. — 2003. — **123**. — P. 67—74.
10. Ghnaya T., Nouairi I., Slama I. et al. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum* // J. Plant Physiol. — 2005. — **162**. — P. 1133—1140.
11. Ghnaya T., Slama I., Messedi D. et al. Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* is significantly improved by NaCl // J. Plant Res. — 2007. — **120**. — P. 309—316.
12. Helal M., Baibagyshew E., Saber S. Uptake of Cd and Ni by spinach, *Spinacea oleracea* (L.) from polluted soil under field conditions as affected by salt water irrigation // Agronom. — 1998. — **18**. — P. 443—448.
13. Huang Y.Z., Zhang G.P., Wu E.B. et al. Interaction of salinity and cadmium stresses on antioxidant enzymes, sodium, and cadmium accumulation in four barley genotypes // J. Plant Nutr. — 2006. — **29**. — P. 2215—2225.
14. Kholodova V.P., Neto D.S., Kruglova A.G. et al. Possible novel role of proline in stress adaptation // Nitrogen in a Sustainable Ecosystem: From the Cell to the Plant / Ed. by M.A. Martins-Loucao, S.H. Lips. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, 2000. — P. 255—259.
15. Kholodova V.P., Neto D.S., Meshcheryakov A.B. et al. Can stress-induced CAM provide for performing the developmental program in *Mesembryanthemum crystallinum* plants? // Russian J. Plant Physiol. — 2002. — **49**. — P. 367—384.
16. Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: Natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction // J. Environ. Qual. — 2001. — **30**. — P. 1919—1926.
17. Maksymiec W. Effect of copper on cellular processes in higher plants // Photosynthetica. — 1997. — **34**. — P. 132—342.
18. Schuetzenduebel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: Heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // J. Exp. Bot. — 2002. — **53**. — P. 1351—1365.
19. Smolders E., McLaughlin M.J. Chloride increases cadmium uptake in Swiss chard in a resin-buffered nutrient solution // Soil Sci Soc. Amer. Proc. — 1996. — **60**. — P. 1443—1447.
20. Thomas J.C., Malik F.K., Endreszl C. et al. Distinct responses to copper stress in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* // Physiol. Plant. — 1998. — **102**. — P. 360—368.
21. Thomas J.C., McElwain E.F., Bohnert H.J. Convergent induction of osmotic stress-responses: ABA and cytokinin and the effects of NaCl // Plant Physiol. — 1992. — **100**. — P. 416—423.
22. Ueda J., Shimazu Y., Ozawa T. Oxidative damage induced by Cu(II)-oligopeptide complexes and hydrogen peroxide // Biochem. Mol. Biol. Int. — 1994. — **34**. — P. 801—808.

23. Winter K. Zum Problem der Ausbildung des Crassulaceensaurestoffwechsels bei *Mesembryanthemum crystallinum* unter NaCl-Einfluss // *Planta*. — 1973. — **109**. — S. 135—145.
 24. Yruela I. Copper in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* — 2005. — **17**. — P. 145—156.

Получено 26.06.2009

ПРОТЕКТОРНИЙ ЭФФЕКТ ХЛОРИДУ НАТРИЮ ПРИ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН КРИШТАЛЕВОЇ ТРАВИ ДО НАДЛИШКУ МІДІ

К.С. Волков¹, В.П. Холодова¹, В.В. Швартау², Вл.В. Кузнецов¹

¹Інститут фізіології рослин ім. К.А. Тимірязєва Російської академії наук, Москва

²Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

Вивчено особливості формування і функціонування адаптивних систем у рослин кришталевої трави (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) за умов сумісної дії двох стресорних чинників — CuSO₄ і NaCl. Установлено, що за наявності у середовищі хлориду натрію значно знижується токсична дія міді. При цьому протекторний ефект NaCl не пов'язаний з обмеженням поглинання рослинами міді. Доведено, що основою виявленого нами захисного ефекту NaCl є стабілізація водного статусу — однієї з первинних фізіологічних мішеней токсичної дії важких металів, що засвідчує різкий спад осмотичного потенціалу клітинного соку та інтенсивне накопичення проліну — універсального низькомолекулярного шаперону — у рослинах, підданих сумісній дії хлориду натрію і сульфату міді.

PROTECTIVE EFFECT OF SODIUM CHLORIDE DURING ADAPTATION OF PLANTS OF *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* L. TO COPPER EXCESS

Volkov K.S.,¹ Holodova V.P.,¹ Schwartau V.V.², Kuznetsov V.V.¹

¹K.A. Timiriazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences
 35 Botanicheskaya St., 127276, Moscow, Russia

²Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine,
 31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The features of forming and functioning of the adaptive systems in plants of *Mesembryanthemum crystallinum* L. at the conditions of the combined action of two stressors CuSO₄ and NaCl were studied. It was shown that presence of sodium chloride in the medium at the concentration up to 400 mM has reduced the toxic effect of copper at concentrations of 25 and 50 μM which are 100 and 200 times higher than copper content in standard cultural solutions. The protective effect of NaCl was not related to restriction on copper absorption by plant. It was established that protective effect of NaCl has mainly been the result of stabilizing of the water relations, one of the primary physiological targets of heavy metals toxic action, which has been testified by a sharp drop in the osmotic potential of cell sap and intensive accumulation of proline, the universal low-molecular chaperon, in plants exposed to the combined action of sodium chloride and copper sulfate.

Key words: *Mesembryanthemum crystallinum* L, copper, salinity, heavy metals, cross-adaptation, proline, stress, CAM-photosynthesis.