

Вследствие хозяйственной деятельности и естественных процессов эрозии горных пород возникает загрязнение почвы ионами тяжелых металлов, например меди. Избыток  $\text{Cu}^{2+}$  через гиперпродукцию активных форм кислорода (АФК) вызывает снижение интенсивности фотосинтеза и дыхания, что сопровождается уменьшением продуктивности растений (Rehman et al.). Считается, что растения наиболее чувствительны к действию стрессоров на стадии проростков, что делает их удобным объектом для ранней диагностики устойчивости.

**Объект исследования** - *Zinnia elegans* Jacq. является одним из кандидатов среды растений для использования при рекультивации почвы, загрязненной тяжелыми металлами

**Цель исследования:** изучение ответных реакций проростков *Z. elegans* на действие разных концентраций  $\text{Cu}^{2+}$ .

## Материалы и методы

1. Семена *Z. elegans* проращивали на чашках Петри на водных растворах  $\text{CuSO}_4$  с концентрацией 25, 50, 100 и 200 мкМ/л при 24°C и фотопериоде 16/8. Контроль - вода. Опыт повторяли трижды (n=25).
2. На 5 день после прорастания определяли всхожесть семян, на 8 день измеряли длину корешка и гипокотыля, общую сухую массу.
3. Спектрофотометрическим методом определяли количество  $\text{H}_2\text{O}_2$  (по Bellincampi D. et al. 2000), содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (по Uchiyama, Mihara, 1978) на приборе Tecan Infinity 200 series («Tecan», Austria).
4. Активность цитозольной и апопластной гваяколовой пероксидазы (ГПО, КФ 1.11.1.7) определяли по Chance и Maehly (1955) на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 («Shimadzu», Japan).
5. Статистическую обработку данных проводили в программе STATISTICA 10 с применением U-критерия Манна-Уитни при  $p < 0.05$ . В тексте представлены среднее значение и ошибка, \* - значимое отличие от контроля.

## Библиографический список

- Bellincampi D., et al. // Plant Physiology. 2000. Vol. 122, P. 1379-1385.  
 Bezini E., et al. // Agric. conspec. sci. 84(4), 357-364 (2019)  
 Chance B., Maehly A.C. // Methods in Enzymology. 1955. Vol. 2, P. 764-775.  
 Liu S., et al. // Procedia Environmental Sciences 16, 293-298 (2012).  
 Jamet E., et al., Trends in Plant Science, 11(1): 33-39 (2009).  
 Rehman M., et al. // Environmental Science and Pollution Research. 2019. Vol. 26, P. 18003-18016.  
 Uchiyama M., Mihara M. // Analytical Biochemistry. 1978. V. 86, N 1, P. 287-297.

## Результаты и обсуждение

Таблица 1. Всхожесть семян на 5 день. Общая сухая биомасса, длина корня и гипокотыля 8-дневных проростков *Z. elegans*.

\*достоверное отличие от контроля при  $P < 0,05$  (T-тест Стьюдента).

Концентрация $\text{Cu}^{2+}$ , $\mu\text{M}$	Всхожесть семян, %	Общая сухая масса, мг	Длина корня, мм	Длина гипокотыля, мм
Вода - контроль	84.0 ± 5.7	18.8 ± 0.9	27.3 ± 2.7	42.3 ± 1.8
25	80.4 ± 4.1	17.8 ± 0.6	19.3 ± 1.6*	40.3 ± 2.2
50	79.5 ± 3.7	16.6 ± 0.7	16.8 ± 1.5*	41.3 ± 1.9
100	72.0 ± 4.3	15.9 ± 0.5*	5.3 ± 0.4*	33.2 ± 2.2*
200	71.3 ± 4.8	15.7 ± 0.6*	4.9 ± 0.5*	23.3 ± 3.5*

Низкие концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  не влияли на всхожесть семян, что может быть вызвано адсорбцией ионов меди на поверхности семенной кожуры и ограничению их транслокации в ткани зародыша (Liu, 2012). Снижение всхожести при действии 100 - 200  $\mu\text{M}$   $\text{Cu}^{2+}$  вероятно связано с ионной токсичностью и/или из-за осмотического эффекта растворов, которые ухудшали поглощение воды семенами, что является важным фактором для прорастания (Bezini, 2019).

Отмечены видимые симптомы действия высоких концентраций меди (100 - 200  $\mu\text{M}$   $\text{Cu}^{2+}$ ) в виде отмирания кончиков главного и боковых корней, а также снижения биомассы и уменьшения линейных размеров корешка и гипокотыля.

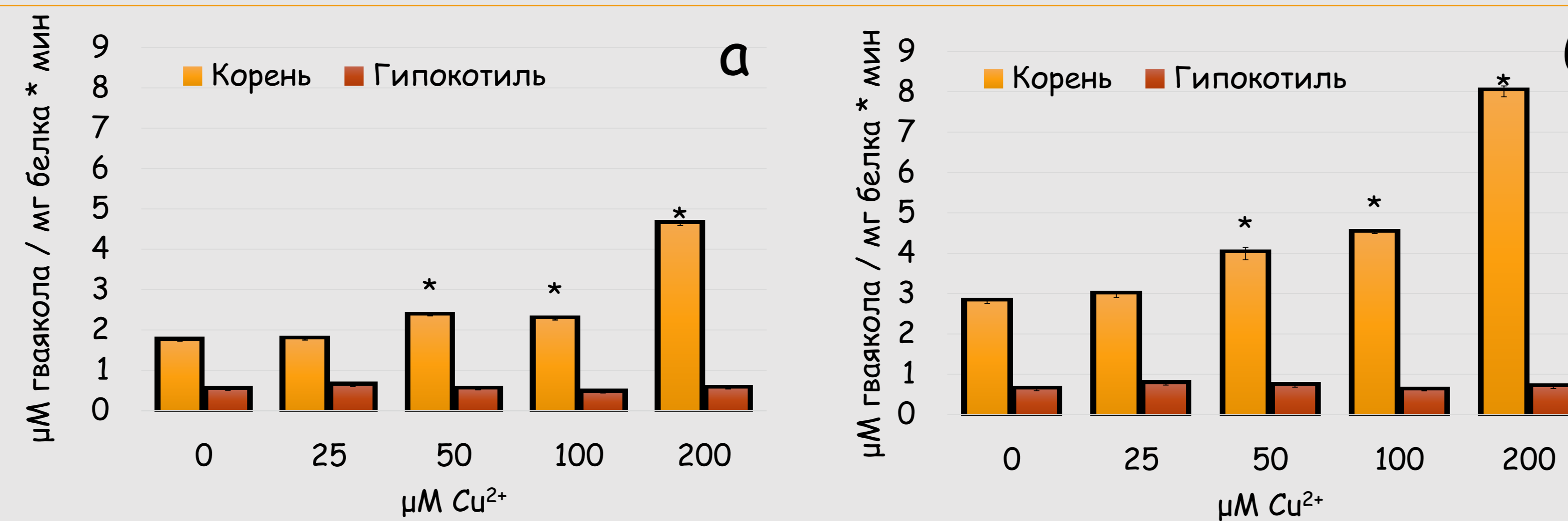


Рис. 2. Активность цитозольной (а) и связанной с клеточной стенкой (б) ГПО в тканях корня и гипокотыля проростков *Z. elegans*. \*достоверное отличие от контроля при  $P < 0,05$  (U-тест)

**Заключение.** С увеличением концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  (50 - 200  $\mu\text{M}$ ) в среде имело место снижение линейных размеров и биомассы проростков *Z. elegans*. Стимулирующего эффекта низких концентраций на всхожесть семян и размеры проростков не выявлено. Действие высоких концентраций (100 - 200  $\mu\text{M}$   $\text{Cu}^{2+}$ ) привело к небольшому снижению всхожести семян и массы проростков, но значительному уменьшению размеров корня и гипокотыля. Ткани корня обладали большей чувствительностью к избытку ионов меди (50 - 200  $\mu\text{M}$ ), о чем свидетельствует высокое содержание  $\text{H}_2\text{O}_2$  и продуктов ПОЛ, увеличение активности цитозольной и апопластной ГПО. Эти изменения свидетельствуют о чувствительности проростков *Z. elegans* к ионам меди и возможном использовании показателя активность ГПО в корне как маркера для ранней диагностики устойчивости растений

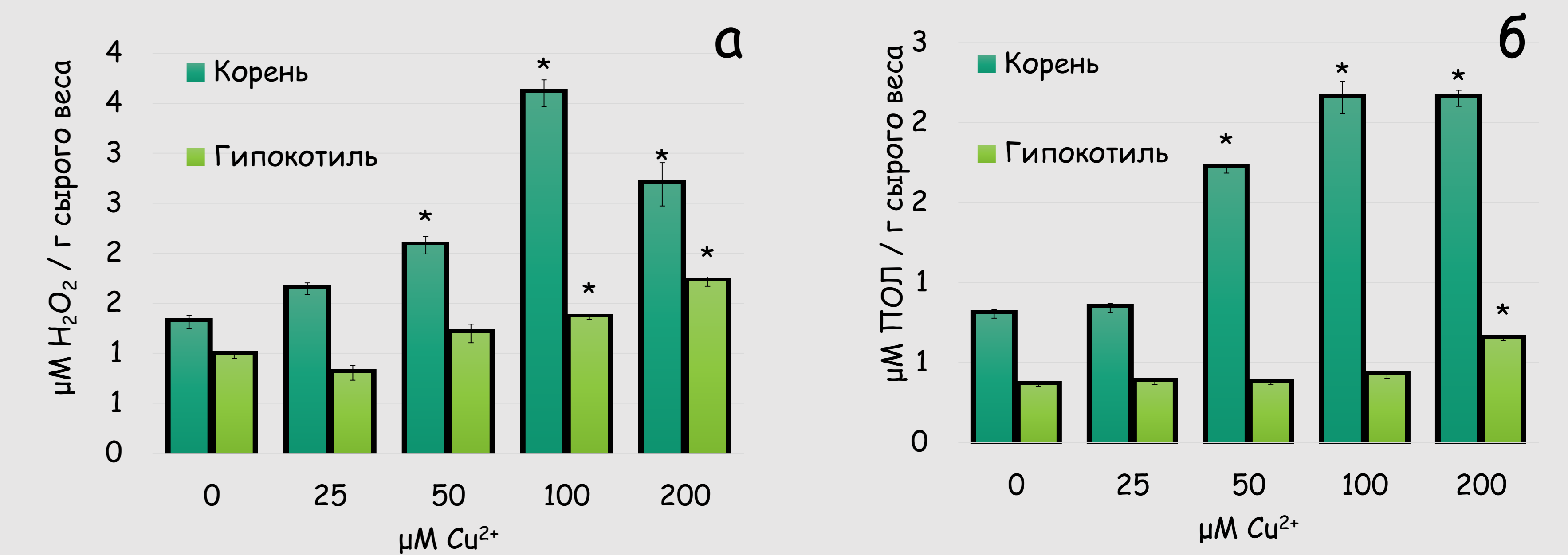


Рис. 1. Содержание перекиси водорода (а) и продуктов ПОЛ (б) в тканях корня и гипокотыля проростков *Z. elegans*. \*достоверное отличие от контроля при  $P < 0,05$  (U-тест)

Отмечено увеличение содержания  $\text{H}_2\text{O}_2$  и развитие окислительного стресса, о чем свидетельствует увеличение содержания продуктов ПОЛ в тканях корня. Вероятно, окислительный стресс мог опосредованно влиять на распределение фитогормонов, подавлять деление клеток и их рост растяжением, прямо или косвенно влиять на процессы фотосинтеза и дыхания, что также привело к уменьшению линейных размеров и низкой биомассе проростков циннии, обработанной 100 - 200  $\mu\text{M}$   $\text{Cu}^{2+}$  (Liu, 2012). Низкое накопление продуктов ПОЛ в тканях гипокотыля относительно тканей корня может быть следствием барьерной функцией корня.

На тканевом уровне барьерным органом для тяжелых металлов являются клеточные стенки. Сообщалось об индукции окислительных процессов в апопласте при действии избытка  $\text{Cu}^{2+}$  в среде (Jamet, 2009). В нашем исследовании в тканях корня активность апопластной ГПО изменялась в большей степени (выше в 1.5 - 1.8 раз), чем цитозольных. Вероятно, этому способствовало образование  $\text{H}_2\text{O}_2$  в апопласте, что стимулировало активность ГПО. В гипокотиле проростков, обработанных ионами меди, на фоне низкого содержания продуктов ПОЛ и пероксида водорода активность цитозольной и апопластной ГПО не изменялась, что позволяет предположить тканеспецифическую локализацию фермента и индукцию его активности при развитии окислительного стресса.