

МАРИЯ ГЕОРГИЕВНА МАЛЕВА

кандидат биологических наук, доцент кафедры экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (Екатеринбург, Российская Федерация)
maria.maleva@mail.ru

НАДЕЖДА ВЛАДИМИРОВНА ЧУКИНА

кандидат биологических наук, доцент кафедры экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (Екатеринбург, Российская Федерация)
nady_dicusar@mail.ru

ГАЛИНА ГРИГОРЬЕВНА БОРИСОВА

доктор географических наук, профессор кафедры экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (Екатеринбург, Российская Федерация)
borisova59@mail.ru

ОЛЬГА ВИКТОРОВНА СЕДЯЕВА

бакалавр департамента «Биологический факультет» Института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (Екатеринбург, Российская Федерация)
o.sedyeva@yandex.ru

КСЕНИЯ АЛЕКСАНДРОВНА ПАНИКОВСКАЯ

бакалавр департамента «Биологический факультет» Института естественных наук и математики, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (Екатеринбург, Российская Федерация)
ksenia.panikovskaya@gmail.com

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ *ELODEA CANADENSIS* НА ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ КАДМИЯ И ЦИНКА*

В модельных системах изучены ответные реакции погруженного макрофита (*Elodea canadensis* Michx.) на действие двух металлов – токсичного (кадмия) и биогенного (цинка). Было исследовано раздельное и совместное влияние сублетальной концентрации Cd^{2+} (100 мкмоль) и умеренной концентрации Zn^{2+} (50 мкмоль) на их аккумуляцию, содержание фотосинтетических пигментов и антиоксидантные реакции в листьях *E. canadensis*. Изучена роль цинка в противодействии токсическим эффектам кадмия. При инкубировании элодеи в среде с Cd^{2+} его содержание в листьях возросло в 780 раз по сравнению с контролем. Инкубирование с Zn^{2+} увеличивало его накопление в 23 раза. Совместное добавление металлов снижало аккумуляцию цинка в 1,6 раза, в то время как кадмия – в 1,4 раза. Ионы кадмия вызывали уменьшение количества фотосинтетических пигментов, антоцианов, растворимого белка, а также активности каталазы, в то время как активность супероксиддисмутазы и содержание растворимых белковых тиолов (в расчете на белок) повышались. Ионы цинка вызывали деградацию хлорофиллов, однако стимулировали синтез каротиноидов и антоцианов в листьях *E. canadensis*. Добавление цинка в среду с кадмием ослабляло токсические эффекты последнего. Вероятно, это обусловлено ингибированием поглощения Cd^{2+} в присутствии Zn^{2+} , а также способностью этого биогенного металла препятствовать окислению биомолекул и образованию активных форм кислорода.

Ключевые слова: *Elodea canadensis*, кадмий, цинк, взаимодействие ионов, аккумуляция, токсичность, фотосинтетические пигменты, антиоксидантная система

ВВЕДЕНИЕ

В условиях существенного роста антропогенных нагрузок все более актуальной становится проблема загрязнения тяжелыми металлами (ТМ) различных компонентов окружающей среды, в том числе водных экосистем [6], [8], [26].

Тяжелые металлы можно разделить на 2 группы: металлы-микроэлементы, необходимые для метаболизма растений (Fe, Cu, Zn, Mn, Mo и др.), которые становятся токсичными, если их содержание превышает определенный уровень; металлы, не участвующие в метаболизме растений (Pb,

Cd, Hg), которые токсичны даже в очень низких концентрациях [14].

Одним из наиболее широко распространенных и высокотоксичных ТМ является кадмий. Загрязнение водных объектов ионами кадмия обусловлено главным образом хозяйственной деятельностью человека: он поступает от предприятий горнодобывающей и металлургической промышленности, автотранспорта, сельскохозяйственных предприятий и др. [6], [25].

К настоящему времени достаточно подробно изучено действие ионов кадмия на живые системы, в том числе растения. Кадмий, проникая в клетки, может связываться с функциональными группами белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, вызывая нарушение метаболизма [5], [7], [21]. Накопление этого иона в растениях подавляет фотосинтез и дыхание, изменяет активность ферментов [6], [9], [13], [21], [26].

Обладая большим сродством к SH-группам, ионы Cd образуют прочные связи с белками, входящими в состав клеточной стенки, тем самым препятствуя ее растяжению. Кроме того, способствуя образованию активных форм кислорода (АФК) и других свободных радикалов, ионы Cd вызывают окисление липидов и других биологически важных молекул [4], [5], [6], [7], [9], [25].

Цинк, напротив, является важнейшим микроэлементом для всех живых организмов, включая растения. Ионы цинка являются кофакторами либо активаторами многих ферментов (карбоангидразы, щелочной фосфатазы, супероксиддисмутазы, алкогольдегидрогеназы и др.). Цинк играет важную роль в метаболизме ДНК и РНК, в регуляции экспрессии генома, синтезе белка и клеточном делении [6], [19]. Однако в повышенных концентрациях цинк, как и другие микроэлементы, может оказывать токсическое действие на растение [14].

В природных местообитаниях растения часто подвергаются одновременному действию нескольких ТМ в различных концентрациях. Характер взаимного действия металлов зависит от их природы, концентрации и видовой специфики растения. Показано, что некоторые металлы при совместном присутствии проявляют антагонизм или синергизм, а взаимодействие других имеет аддитивный характер [1], [6], [21], [23]. При оценке взаимного влияния металлов на растения внимание ученых, как правило, акцентировано на процессах поглощения и накопления ионов, в то время как структурно-функциональные особенности при совместном действии ионов исследованы недостаточно. Изучение взаимного действия ионов кадмия и цинка на физиолого-биохимические параметры растений на клеточном уровне представляет особый интерес, поскольку эти металлы имеют сходные химические свойства вследствие близких значений ионных радиусов [6], [25]. Известно, что кадмий способен замещать

цинк в активных центрах металлсодержащих ферментов, приводя к резкому нарушению ферментативных процессов [6], [7], [22].

Проведенные ранее зарубежными учеными физиолого-биохимические исследования, объектом которых был погруженный макрофит *Ceratophyllum demersum* L., показали, что добавление цинка (10–200 мкмоль) к кадмию (10 мкмоль) существенно уменьшало продукцию свободных радикалов, повышало активность ферментов, стабилизовало содержание фотосинтетических пигментов [5], [6], [7]. В связи с этим правомерным является вопрос о способности цинка оказывать протекторное влияние и снижать негативные последствия действия кадмия на растения при его высоких (сублетальных) концентрациях.

Цель работы – исследование раздельного и совместного действия ионов Cd^{2+} (100 мкмоль) и Zn^{2+} (50 мкмоль) на их аккумуляцию, содержание фотосинтетических пигментов и антиоксидантные реакции в листьях *Elodea canadensis* Michx.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Elodea canadensis Michx. (элодея канадская) – многолетнее высшее водное растение из семейства Hydrocharitaceae с погруженными в воду длинными ветвистыми стеблями. Данный вид занесен из Северной Америки, распространен повсеместно.

Побеги элодеи длиной 15–25 см культивировали в течение 5 сут на 5 % среде Хогланда – Арнона I (1 л среды содержал 41 мг безводного $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 25 мг KNO_3 , 6,8 мг KH_2PO_4 , 12 мг $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). Выбор питательной среды без добавления микроэлементов (в том числе цинка) был обусловлен необходимостью исключить их влияние в контроле. Ранее проведенные эксперименты показали [2], что в условиях краткосрочного инкубирования водных растений на такой среде дефицит микроэлементов не был выражен. Фотопериод составлял 16 : 8, температура 25 °C : 22 °C (день : ночь соответственно), интенсивность освещения – 100 мкмоль $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$. В опытные варианты добавляли сульфаты кадмия и цинка (раздельно и совместно) в концентрации 100 и 50 мкмоль соответственно. Контролем служил вариант без добавления металлов. По окончании опыта растения извлекали и тщательно промывали 0,01 % раствором Na-ЭДТА и дистиллированной водой.

Содержание металлов в листьях элодеи определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (AAS Vario 6, «Analytik Jena», Germany) после мокрого озоления 70 % азотной кислотой особой чистоты.

Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов) определяли спектрофотометрически на Jasco V-650 («Jasco Inc.», США) в ацетоновых экстрактах (80 %), согласно Лихтенштейлеру [17].

Содержание антоцианов определяли спектрофотометрически после экстрагирования в 1 % растворе соляной кислоты, по методике Д. А. Муравьевой и др. [3].

Общее содержание белковых растворимых тиолов (РТ) определяли спектрофотометрически с использованием реактива Элмана [3].

Для определения содержания растворимого белка и активности антиоксидантных ферментов пробы листьев (0,5 г) замораживали жидким азотом и гомогенизировали в 5 мл 0,1 М К/Na-фосфатного буфера (рН = 7,4). Содержание растворимого белка (РБ) определяли по методу Брэдфорд [3], используя бычий сывороточный альбумин как стандарт.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли путем измерения скорости ингибирования фотохимического восстановления нитросинего тетразолия при длине волны 560 нм; активность каталазы (КАТ) – измерением разложения пероксида водорода во времени при 240 нм [3].

Статистическая обработка. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Excel 7,0 и Statistica 6,0. Достоверность различий между вариантами определяли по непараметрическому критерию Манна – Уитни при уровне значимости $p < 0,05$. Коэффициенты корреляции были рассчитаны на основе ранговой корреляции Спирмена. На рисунках показаны средние арифметические значения из трех биологических повторностей и их стандартные ошибки. Разными буквами указаны достоверно значимые различия между вариантами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При инкубировании элодеи в течение 5 сут в среде с ионами кадмия его содержание в листьях возрастало в 780 раз по сравнению с контролем (рис. 1). Такой высокий уровень аккумуляции металла, вероятно, связан с тем, что элодея канадская является погруженным водным растением. Для нее характерна высокая поглощательная способность, обусловленная значительной поверхностью соприкосновения листьев с водой и анатомическими особенностями (слабо развитая кутикула, тонкая листовая пластинка).

Инкубирование растений в среде с Zn^{2+} также увеличивало его содержание в листьях по сравнению с контролем, однако в меньшей степени, чем в случае с кадмием (в 23 раза). При этом исходное содержание в листьях цинка было существенно (почти в 20 раз) выше, чем содержание кадмия.

При добавлении цинка в среду с кадмием их содержание в листьях достоверно уменьшалось по сравнению с отдельным. В присутствии цинка накопление Cd^{2+} было ниже в 1,4 раза, в то время как содержание Zn^{2+} в присутствии кадмия снижалось в 1,6 раза.

Ранее на *E. canadensis* было показано, что добавление другого биогенного элемента (марганца)

к кадмию в равной концентрации (100 мкмоль) также приводило к существенному уменьшению поглощения обоих металлов [2].

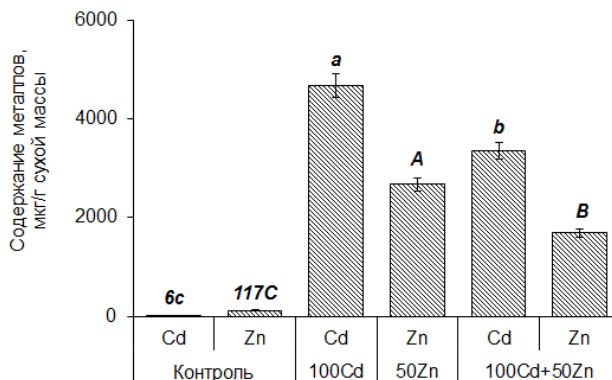


Рис. 1. Содержание кадмия и цинка в листьях *E. canadensis* при инкубировании в среде с металлами

Явление ингибирования процесса поглощения Cd^{2+} под действием Zn^{2+} было показано и другими авторами на разных видах наземных и водных растений [1], [5], [6], [22]. Имеются также данные о том, что в присутствии кадмия в листьях многих видов растений снижалось содержание цинка [1], [5], [6], [21].

Известно, что транспорт через клеточные мембраны ряда ионов ТМ, включая цинк и кадмий, осуществляется при участии ZIP-транспортёров [1], [6] и других транспортных белков. Очевидно, снижение поглощения Cd^{2+} и Zn^{2+} элодеей при их совместном присутствии можно объяснить конкуренцией между изученными ионами за общие мембранные транспортные белки, обеспечивающие их поступление в клетки растений. Антагонизм между Cd^{2+} и Zn^{2+} во многом определяется физико-химическими причинами, и в частности близостью ионных радиусов этих металлов [6], [25].

Таким образом, проведенные нами исследования с использованием модельных систем подтвердили данные многих авторов о том, что взаимоотношения между ионами кадмия и цинка носят антагонистический характер.

Важную роль при изучении адаптивных возможностей растений играет изучение пластичности фотосинтетического аппарата, который является достаточно чувствительным к действию неблагоприятных факторов [4], [18].

В присутствии ионов кадмия и цинка (по отдельности) в листьях элодеи снижалось содержание как хлорофилла *a* (Хл *a*), так и хлорофилла *b* (Хл *b*), в среднем в 1,8 и в 1,6 раза соответственно (рис. 2А). Совместное присутствие ионов этих металлов приводило к еще большему снижению количества хлорофиллов (в 2 раза по сравнению с контролем). Обнаружена отрицательная корреляция между содержанием в листьях Хл *a* и накоплением кадмия ($r = -0,78$ при $p < 0,05$; таблица).

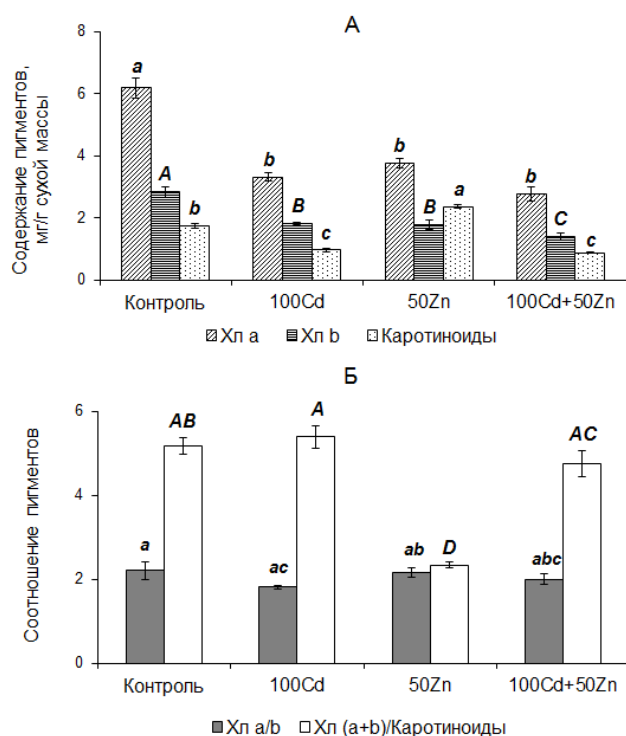


Рис. 2. Содержание фотосинтетических пигментов (А) и их соотношение (Б) в листьях *E. canadensis* при инкубировании в среде с металлами

Одной из причин снижения содержания зеленых пигментов в присутствии металлов является подавление синтеза хлорофилла, связанное в первую очередь с ингибирующим действием металлов на активность ферментов его биосинтеза [1], [6], [25].

На погруженном макрофите *Ceratophyllum demersum* L. было показано, что добавление Zn^{2+} (10–200 мкмоль) к Cd^{2+} (10 мкмоль) обеспечивало не только поддержание уровня хлорофилла, но и накопление его свыше уровня контроля [6]. Однако в наших исследованиях защитная роль Zn^{2+} в отношении хлорофилла не проявлялась, что, очевидно, объясняется высокой концентрацией в среде Cd^{2+} .

При раздельном внесении металлов количество каротиноидов в листьях элодеи существенно изменялось: в присутствии кадмия оно уменьшалось в 1,8 раза ($r = -0,63$ при $p < 0,05$), в то время как в присутствии цинка – повышалось на 35 % по сравнению с контролем. Однако при совместном действии кадмия и цинка содержание каротиноидов оставалось на таком же низком уровне, как при раздельном действии Cd^{2+} . Существенное (в 4 раза) уменьшение содержания каротиноидов в листьях элодеи под действием Cd^{2+} (100 мкмоль) было отмечено нами и ранее [2].

Значения коэффициентов корреляции между изученными параметрами *E. canadensis* при инкубировании в среде с металлами

Параметры	Cd	Zn	Хл а	Хл б	Кар.	АЦ	РБ	РТ	СОД	КАТ
Cd	1,00									
Zn	-0,40	1,00								
Хл а	-0,78*	0,02	1,00							
Хл б	-0,52	-0,39	0,85**	1,00						
Кар.	-0,63*	0,48	0,66*	0,49	1,00					
АЦ	-0,30	-0,30	0,51	0,66*	0,21	1,00				
РБ	-0,93***	0,48	0,64*	0,36	0,66*	0,13	1,00			
РТ	0,98***	-0,39	-0,77*	-0,49	-0,60*	-0,27	-0,89**	1,00		
СОД	0,93***	-0,39	-0,77*	-0,53	-0,66*	-0,31	-0,87**	0,90***	1,00	
КАТ	-0,80*	0,73*	0,57	0,22	0,78*	0,22	0,74*	-0,80*	-0,75*	1,00

Примечание. Хл а – хлорофилл а, Хл б – хлорофилл б, Кар. – каротиноиды, АЦ – антоцианы, РБ – растворимый белок, РТ – растворимые тиолы, СОД – супероксиддисмутаза, КАТ – каталаза. N = 12, * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$.

Снижение содержания каротиноидов у элодеи при инкубировании с Cd^{2+} может быть связано с их окислительной деградацией. Как известно, каротиноиды не только принимают участие в поглощении световой энергии, но и обладают антиоксидантной активностью [11].

Важным показателем стабильного функционирования фотосинтетического аппарата является отношение Хл а к Хл б и суммы хлорофиллов к каротиноидам.

Результаты проведенных исследований показали, что соотношение Хл а/б у элодеи во всех

вариантах было примерно одинаковым: достоверных различий от контроля не обнаружено (рис. 2Б).

Отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам в присутствии кадмия и при совместном действии кадмия и цинка оставалось неизменным (на уровне контроля). В присутствии Zn^{2+} оно было минимальным, что объясняется существенным повышением содержания каротиноидов при его добавлении в среду (см. рис. 2Б).

Таким образом, кадмий снижал содержание всех фотосинтетических пигментов, в то время как цинк – только хлорофиллов.

Важную роль в растительном метаболизме играют антоцианы – водорастворимые пигменты растений, обуславливающие окраску цветков, плодов и листьев. Физиологические функции антоцианов связаны в первую очередь с их участием в процессах антиоксидантной защиты. Известно, что антоцианы способны не только образовывать хелатирующие комплексы с ионами металлов, но и участвовать в ликвидации свободных радикалов [16], [24].

При инкубировании элодеи с Cd^{2+} содержание антоцианов в листьях уменьшалось в 1,6 раза (рис. 3А). Присутствие Zn^{2+} стимулировало синтез антоцианов на 28 %, в то время как добавление кадмия к цинку не оказывало влияния на их количество. Существенное снижение содержания антоцианов в присутствии Cd^{2+} , по-видимому, объясняется их окислительной деструкцией, вероятно, как и в случае с каротиноидами. Кроме того, на некоторых видах высших растений было показано, что ионы кадмия могут ингибировать активность одного из ключевых ферментов биосинтеза флавоноидов – фенилаланин-аммиак-лиазы [15].

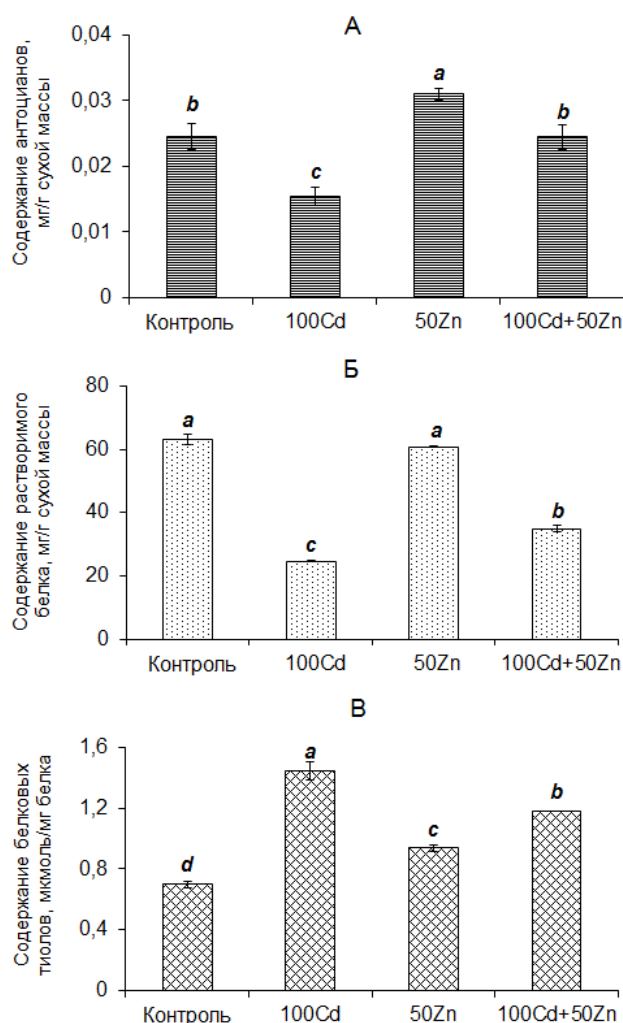


Рис. 3. Содержание антоцианов (А), растворимого белка (Б) и растворимых тиолов (В) в листьях *E. canadensis* при инкубировании в среде с металлами

Существенное снижение количества растворимого белка в листьях элодеи (в 2,5 раза от контроля, рис. 3Б) также свидетельствует о сильном токсичном действии ионов кадмия, способных вызывать его разрушение [6]. Между накоплением в листьях Cd^{2+} и содержанием растворимого белка обнаружена высокая отрицательная корреляция ($r = -0,93$ при $p < 0,0001$).

Окислительные повреждения молекул белков и других биомолекул в присутствии Cd^{2+} обусловлены генерацией АФК в клетке. Подтверждением этому являются данные о существенном повышении активности липоксигеназы и интенсивности перекисного окисления липидов под действием Cd^{2+} даже при его пониженной концентрации (10 мкмоль) [5], [7]. В частности, показано, что ионы кадмия могут вызывать окисление NADPH, при котором образуются свободные супероксид анион радикалы, в то время как ионы цинка могут противодействовать деструктивному воздействию этого металла [6].

В нашем исследовании Zn^{2+} в концентрации 50 мкмоль не оказывал влияния на содержание растворимого белка. Однако при совместном действии Cd^{2+} и Zn^{2+} содержание белка было в 1,8 раза ниже, чем в контроле, однако на 42 % выше, чем при раздельном внесении Cd^{2+} . Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают выводы зарубежных авторов о способности цинка снижать окислительное повреждение белков, вызванное высокими концентрациями кадмия [6], [7].

Одним из наиболее эффективных механизмов детоксикации ТМ у растений и других организмов является их связывание низкомолекулярными белками и пептидами, обогащенными SH-группами (металлотионеинами и фитохелатинами). Эти соединения синтезируются в норме в незначительном количестве. Однако показано, что их содержание резко возрастает при действии ТМ (не только в модельных условиях, но и в природных местообитаниях) [8], [10], [20].

Ионы кадмия обладают сильным сродством к сульфгидрильным группам некоторых соединений, в том числе металлотионеинподобных протеинов [25]. Содержание растворимых белковых тиолов в листьях элодеи при инкубировании с Cd^{2+} коррелировало с его накоплением ($r = 0,98$ при $p < 0,0001$), что подтверждает важную роль этих соединений в детоксикации кадмия. В присутствии кадмия содержание растворимых тиолов увеличивалось в 2 раза, при действии цинка – на 27 % (рис. 3В).

В наших исследованиях, проведенных ранее на *Lemna trisulca*, было также показано значительное дозозависимое увеличение содержания растворимых тиолов при инкубировании с Cd^{2+} (1–100 мкмоль) в течение 7 сут [16].

При совместном действии кадмия и цинка количество растворимых белковых тиолов в листьях элодеи также возрастало (хотя и в меньшей степени, чем при действии Cd^{2+}) (см. рис. 3В).

Известно, что важную роль при окислительном стрессе, вызванном действием различных поллютантов, играют ферменты-антиоксиданты, важнейшим из которых является СОД [26]. Этот фермент катализирует реакцию восстановления супероксид-радикала до пероксида водорода [1], [12].

Кадмий, взаимодействуя с ферментами, обычно ингибирует их активность. В большинстве случаев инактивация фермента под воздействием Cd^{2+} обусловлена взаимодействием металлов с SH-группами фермента [6], [25]. Однако кадмий может не только связывать SH-группы, но и вызывать окислительную деструкцию полимеров. Кроме того, известно, что ионы металлов (включая кадмий и цинк) могут замещать металлы-кофакторы в молекулах ферментов, оказывая влияние на их активность [6].

В присутствии Cd^{2+} активность СОД, рассчитанная на белок, возрастала в 1,7 раза (рис. 4А) и положительно коррелировала с накоплением кадмия в листьях ($r = 0,93$ при $p < 0,0001$). Повышенное ее значение при действии Cd^{2+} отчасти связано с резким снижением содержания в листьях элodeи растворимого белка (см. рис. 3А), что подтверждается отрицательной корреляцией между активностью этого фермента и количеством белка ($r = -0,87$ при $p < 0,001$). При этом активность СОД в расчете на сухую массу была достоверно ниже (в 1,5 раза), чем в контроле.

Инкубирование с Zn^{2+} немного увеличивало активность СОД (как на белок, так и на сухую массу) по сравнению с контролем, но различия были недостоверными (см. рис. 4А). При совместном действии Cd^{2+} и Zn^{2+} активность СОД (в расчете на белок) оставалась примерно на том же уровне, что и при отдельном действии Cd^{2+} , поскольку содержание белка также достоверно снижалось от контроля. В то же время при расчете на сухую массу снижение активности фермента проявлялось в меньшей степени, чем при действии одного кадмия, что свидетельствует о протекторной роли цинка.

В детоксикации АФК, в частности пероксида водорода, важную роль играют каталаза и различные пероксидазы [5], [12], [26].

Инкубация элodeи на среде с добавлением кадмия вызывала снижение активности КАТ (в 2,2 раза в расчете на белок и в 4,4 раза в расчете на сухую массу) (рис. 4Б). Обнаружена отрицательная корреляция между содержанием Cd^{2+} и активностью этого фермента ($r = -0,8$ при $p < 0,05$). Вероятно, в данном случае имела место инактивация КАТ, что нередко наблюдается при сильном окислительном стрессе [6], [9], [12].

По-видимому, в этих условиях более важную роль играли другие ферменты-антиоксиданты, способные восстанавливать пероксид водорода до воды (аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза, гваяколпероксидаза и др.). Возможность активации этих ферментов при снижении активности КАТ показана в обзоре [12].

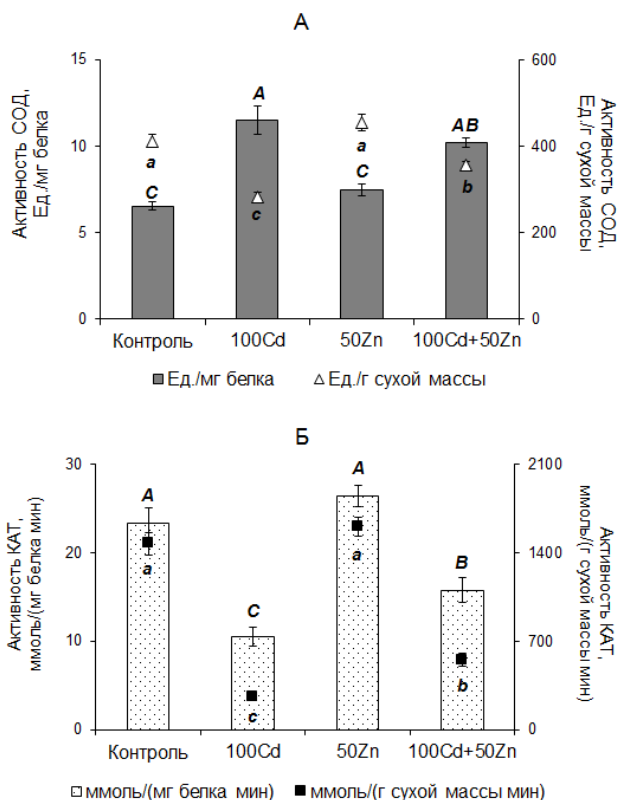


Рис. 4. Активность супероксиддисмутазы (А) и каталазы (Б) в листьях *E. canadensis* при инкубировании в среде с металлами

Инкубирование растений с Zn^{2+} не приводило к достоверному изменению активности КАТ по сравнению с контролем (см. рис. 4Б). При совместном присутствии ионов ее активность снижалась, однако в меньшей степени, чем при раздельном внесении Cd^{2+} . В целом изменение активности КАТ положительно коррелировало с изменением содержания растворимого белка ($r = 0,74$ при $p < 0,05$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что совместное действие металлов влияло на процессы их поглощения листьями *E. canadensis* и приводило к снижению степени аккумуляции как Cd^{2+} , так и Zn^{2+} . Под действием сублетальной концентрации кадмия у элodeи достоверно снижались содержание фотосинтетических пигментов, антоцианов, растворимого белка и активность КАТ, в то время как содержание растворимых тиолов и активность СОД (в расчете на белок) повышались. Присутствие в среде Zn^{2+} ослабляло токсическое действие кадмия на исследованные параметры. Вероятно, это объясняется не только ингибированием поглощения Cd^{2+} в присутствии Zn^{2+} , но и способностью этого биогенного металла препятствовать окислению некоторых биомолекул и образованию активных форм кислорода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кошкин Е. И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. М.: Дрофа, 2010. 638 с.
2. Малева М. Г., Чукина Н. В., Борисова Г. Г. Взаимное действие ионов кадмия и марганца на погруженные макрофиты (на примере элодеи канадской) // Водное хозяйство России. 2016. № 3. С. 82–91.
3. Методы оценки антиоксидантного статуса растений: Учебно-метод. пособие / Г. Г. Борисова и др.; Отв. ред. Н. В. Чукина. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 72 с.
4. Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 172 с.
5. Aravind P., Prasad M. N. V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiol. Biochem.* 2003. Vol. 41. P. 391–397. DOI: 10.1016/S0981-9428(03)00035-4.
6. Aravind P., Prasad M. N. V. Cadmium-zinc interactions in hydroponic system using *Ceratophyllum demersum*: adaptive plant ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. Vol. 17. No 1. P. 3–20. DOI:10.1590/S1677-04202005000100002.
7. Aravind P., Prasad M. N. V., Malec P., Waloszek A., Strzalka K. Zinc protects *Ceratophyllum demersum* L. (free-floating hydrophyte) against reactive oxygen species induced by cadmium. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2009. Vol. 23. P. 50–60. DOI: 10.1016/j.jtemb.2008.10.002.
8. Borisova G., Chukina N., Maleva M., Kumar A., Prasad M. N. V. Thiols as biomarkers of heavy metal tolerance in the aquatic macrophytes of Middle Urals, Russia. *Int. J. Phytorem.* 2016. Vol. 18. No 10. P. 1037–1045. DOI: 10.1080/15226514.2016.1183572.
9. Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M. H., Ferjani E. E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 1997. Vol. 127. P. 139–147. DOI:10.1016/S0168-9452(97)00115-5.
10. Cobbet C. S., Goldsbrough P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 2002. Vol. 53. P. 159–182. DOI:10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154.
11. Edge R., McGarvey D. J., Truscott T. G. The carotenoids as antioxidants – a review. *Photochem. Photobiol. Ser. Biol.* 1997. Vol. 41. P. 189–200.
12. Gratão P. L., Polle A. Making life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biol.* 2005. Vol. 32. P. 481–494.
13. Hou W., Chen X., Song G., Wang Q., Chang C. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiol. Biochem.* 2007. Vol. 45. No 1. P. 62–69.
14. Kabata-Pendias A., Pendias H. Trace elements in soil and plants. Boca Raton, CRC Press, 2001. 403 p.
15. Krupa Z., Baranowska M., Orzol D. Can anthocyanins be considered as heavy metal stress indicator in higher plants? *Acta Physiol. Plant.* 1996. Vol. 18. No 2. P. 147–151.
16. Landi M., Tattini M., Gould K. S. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environ. Experiment. Bot.* 2015. Vol. 119. P. 4–17. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.012.
17. Lichtenthaler H. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Meth. Enzymol.* 1987. Vol. 148. P. 350–382. DOI:10.1016/0076-6879(87)48036-1.
18. Malec P., Maleva M., Prasad M. N. V., Strzalka K. Responses of *Lemna trisulca* L. (Duckweed) exposed to low doses of cadmium: thiols, metal binding complexes, and photosynthetic pigments as sensitive biomarkers of ecotoxicity. *Protoplasma.* 2010. Vol. 240. P. 69–74. DOI: 10.1007/s00709-009-0091-2.
19. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Second edition. London, Academic Press, 1995. 889 p.
20. Mishra S., Tripathi R. D., Srivastava S., Dwivedi S., Trivedi P. K., Dhankher O. P., Khare A. Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L. *Biore-source Technol.* 2009. Vol. 100. P. 2155–2161.
21. Nadia A. A., Pilar M. B., Ater M. Tolerance and bioaccumulation of cadmium by *Phragmites australis* grown in the presence of elevated concentrations of cadmium, copper, and zinc. *Aquat. Bot.* 2004. Vol. 80. P. 163–167.
22. Nazar R., Iqbal N., Masood A., Khan R., Syeed S., Khan N. A. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American J. Plant Sci.* 2012. Vol. 3. P. 1476–1489. DOI: 10.4236/ajps.2012.310178.
23. Ouzounidou G., Moustakas M., Eleftheriou E. P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Environ. Contamin. Toxicol.* 1997. Vol. 32. No 2. P. 154–160.
24. Posmyk M. M., Janas K. M., Kontek R. Red cabbage anthocyanin extract alleviates copper-induced cytological disturbances in plant meristematic tissue and human lymphocytes. *BioMetals.* 2009. Vol. 22. P. 479–490. DOI: 10.1007/s10534-009-9205-8.
25. Seregin I. V., Ivanov V. B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 2001. Vol. 48. No 4. P. 523–544.
26. Upadhyay R. K. Metal stress in plants: its detoxification in natural environment. *Braz. J. Bot.* 2014. Vol. 37. P. 377–382.

Maleva M. G., Ural Federal University (Ekaterinburg, Russian Federation)

Chukina N. V., Ural Federal University (Ekaterinburg, Russian Federation)

Borisova G. G., Ural Federal University (Ekaterinburg, Russian Federation)

Sedyayeva O. V., Ural Federal University (Ekaterinburg, Russian Federation)

Panikovskaya K. A., Ural Federal University (Ekaterinburg, Russian Federation)

RESPONSES OF *ELODEA CANADENSIS* TO THE CADMIUM AND ZINC IONS ACTION

A response of the submerged macrophyte (*Elodea canadensis* Michx.) to the action of toxic metal (cadmium) and biogenic metal (zinc) has been studied in model systems. The separate and combined effect of the sublethal concentration of Cd^{2+} (100 μmol) and moderate concentration of Zn^{2+} (50 μmol) on their accumulation, content of photosynthetic pigments and antioxidant reactions in the leaves of *E. canadensis* was investigated. The role of zinc in counteracting the toxic effects of cadmium has been studied. During incubation of plants in a medium with Cd^{2+} , its content in leaves was increased by 780 times in comparison with the control group. The incubation with Zn^{2+} increased its accumulation by 23 times. Addition of both metals reduced accumulation of Zn^{2+} by 1,6 times,

whereas Cd^{2+} – 1,4 times. Cadmium ions caused a decrease in the amount of photosynthetic pigments, anthocyanins, soluble protein, and catalase activity, while the activity of superoxide dismutase and the content of soluble protein thiols (per mg of protein) increased. Zinc ions caused degradation of chlorophylls, but stimulated the process of synthesis of carotenoids and anthocyanins in the leaves of *E. canadensis*. Adding zinc to the medium with cadmium reduced the toxic effect of the latter. This phenomenon is probably conditioned by the inhibition of Cd^{2+} accumulation in the presence of Zn^{2+} , as well as by the ability of this biogenic metal to inhibit oxidation of biomolecules and, consequently, further generation of reactive oxygen species.

Key words: *Elodea canadensis*, cadmium, zinc, ion interaction, accumulation, toxicity, photosynthetic pigments, antioxidant system

* The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, agreement No 02.A03.21.0006.

REFERENCES

1. Koshkin E. I. Physiology of agricultural crops resistance. Moscow, Drofa Publ., 2010. 638 p. (In Russ.)
2. Maleva M. G., Chukina N. V., Borisova G. G. The mutual effect of cadmium and manganese ions on submerged macrophytes (on the example of the *Elodea canadensis*). *Vodnoe khozyaystvo Rossii*. 2016. No 3. P. 82–91. (In Russ.)
3. Methods for assessing the antioxidant status of plants. G. G. Borisova i dr.; Otv. red. N. V. Chukina. Ekaterinburg, Izd-vo Ural. un-ta, 2012. 72 p. (In Russ.)
4. Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. M., Lajdinen G. F. The tolerance of plants to heavy metals. Petrozavodsk, Karel'skiy nauchnyy tsentr RAN Publ., 2007. 172 p. (In Russ.)
5. Aravind P., Prasad M. N. V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiol. Biochem.* 2003. Vol. 41. P. 391–397. DOI: 10.1016/S0981-9428(03)00035-4.
6. Aravind P., Prasad M. N. V. Cadmium-zinc interactions in hydroponic system using *Ceratophyllum demersum*: adaptive plant ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. Vol. 17. No 1. P. 3–20. DOI:10.1590/S1677-04202005000100002.
7. Aravind P., Prasad M. N. V., Malec P., Waloszek A., Strzalka K. Zinc protects *Ceratophyllum demersum* L. (free-floating hydrophyte) against reactive oxygen species induced by cadmium. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2009. Vol. 23. P. 50–60. DOI: 10.1016/j.jtemb.2008.10.002.
8. Borisova G., Chukina N., Maleva M., Kumar A., Prasad M. N. V. Thiols as biomarkers of heavy metal tolerance in the aquatic macrophytes of Middle Urals, Russia. *Int. J. Phytorem.* 2016. Vol. 18. No 10. P. 1037–1045. DOI: 10.1080/15226514.2016.1183572.
9. Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M. H., Ferjani E. E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 1997. Vol. 127. P. 139–147. DOI:10.1016/S0168-9452(97)00115-5.
10. Cobbet C. S., Goldsbrough P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 2002. Vol. 53. P. 159–182. DOI:10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154.
11. Edge R., McGarvey D. J., Truscott T. G. The carotenoids as antioxidants – a review. *Photochem. Photobiol. Ser. Biol.* 1997. Vol. 41. P. 189–200.
12. Gratião P. L., Polle A. Making life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biol.* 2005. Vol. 32. P. 481–494.
13. Hou W., Chen X., Song G., Wang Q., Chang C. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiol. Biochem.* 2007. Vol. 45. No 1. P. 62–69.
14. Kabata-Pendias A., Pendias H. Trace elements in soil and plants. Boca Raton, CRC Press, 2001. 403 p.
15. Krupa Z., Baranowska M., Orzol D. Can anthocyanins be considered as heavy metal stress indicator in higher plants? *Acta Physiol. Plant.* 1996. Vol. 18. No 2. P. 147–151.
16. Landi M., Tattini M., Gould K. S. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environ. Experiment. Bot.* 2015. Vol. 119. P. 4–17. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.012.
17. Lichtenthaler H. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Meth. Enzymol.* 1987. Vol. 148. P. 350–382. DOI:10.1016/0076-6879(87)48036-1.
18. Malec P., Maleva M., Prasad M. N. V., Strzalka K. Responses of *Lemna trisulca* L. (Duckweed) exposed to low doses of cadmium: thiols, metal binding complexes, and photosynthetic pigments as sensitive biomarkers of ecotoxicity. *Protoplasma*. 2010. Vol. 240. P. 69–74. DOI: 10.1007/s00709-009-0091-2.
19. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Second edition. London, Academic Press, 1995. 889 p.
20. Mishra S., Tripathi R. D., Srivastava S., Dwivedi S., Trivedi P. K., Dhankher O. P., Khare A. Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L. *Biore-source Technol.* 2009. Vol. 100. P. 2155–2161.
21. Nadia A. A., Pilar M. B., Ater M. Tolerance and bioaccumulation of cadmium by *Phragmites australis* grown in the presence of elevated concentrations of cadmium, copper, and zinc. *Aquat. Bot.* 2004. Vol. 80. P. 163–167.
22. Nazar R., Igbal N., Masood A., Khan R., Syeed S., Khan N. A. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American J. Plant Sci.* 2012. Vol. 3. P. 1476–1489. DOI: 10.4236/ajps.2012.310178.
23. Ouzounidou G., Moustakas M., Eleftheriou E. P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Environ. Contamin. Toxicol.* 1997. Vol. 32. No 2. P. 154–160.
24. Posmyk M. M., Janas K. M., Kontek R. Red cabbage anthocyanin extract alleviates copper-induced cytological disturbances in plant meristematic tissue and human lymphocytes. *BioMetals*. 2009. Vol. 22. P. 479–490. DOI: 10.1007/s10534-009-9205-8.
25. Seregin I. V., Ivanov V. B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 2001. Vol. 48. No 4. P. 523–544.
26. Upadhyay R. K. Metal stress in plants: its detoxification in natural environment. *Braz. J. Bot.* 2014. Vol. 37. P. 377–382.

Поступила в редакцию 06.02.2018