

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТКА ЦИНКА НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ
АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ
У РАСТЕНИЙ *Brassica juncea* L. (CZERN.) И *Sinapis alba* L.

© 2023 г. И. А. Нилова^а, *, Н. С. Репкина^а, Н. М. Казнина^а

^а Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”,
Петрозаводск, Россия

*e-mail: im-ira@mail.ru

Поступила в редакцию 28.02.2023 г.

После доработки 10.03.2023 г.

Принята к публикации 14.03.2023 г.

В условиях вегетационного опыта изучали влияние цинка в концентрациях 5 (контроль), 50, 100 и 150 мг/кг субстрата на рост, интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность компонентов антиоксидантной системы у растений *Brassica juncea* L. (Czern.) сорт Славянка и *Sinapis alba* L. сорт Бельгия. Обнаружены некоторые различия и сходства в ответной реакции АОС изученных видов на избыток цинка в корнеобитаемой среде. Так, у *B. juncea* при воздействии цинка в высоких концентрациях изменений интенсивности ПОЛ не происходило, несмотря на высокое содержание металла в корнях и побегах. Вместе с тем уже в присутствии металла в концентрации 50 мг/кг субстрата наблюдалось увеличение активности гваяколовой пероксидазы (ГвПО) и каталазы. У *S. alba* при высоких концентрациях цинка в субстрате содержание металла в побегах оказалось выше, чем у *B. juncea*. При этом, заметно возрастало содержание малонового диальдегида, несмотря на усиление активности супероксиддисмутазы и ГвПО. У обоих изученных видов растений увеличение концентрации цинка в субстрате до 50 мг/кг и выше приводило к повышению уровня пролина, тогда как содержание каротиноидов снижалось. Учитывая, что в изученных концентрациях металл оказывал менее сильное негативное воздействие на рост побега у *B. juncea* по сравнению с *S. alba*, сделан вывод о большей устойчивости растений этого вида к избытку цинка в корнеобитаемой среде.

Ключевые слова: горчица белая, горчица сарептская, антиоксидантные ферменты, окислительный стресс, пролин, цинк

DOI: 10.31857/S0015330323600183, EDN: WWNQPF

ВВЕДЕНИЕ

Представители семейства *Brassicaceae* в целом характеризуются довольно высокой устойчивостью к тяжелым металлам, в том числе к цинку [1–3]. Более того, некоторые из них рекомендованы для использования в фиторемедиации загрязненных цинком территорий. Среди них в большей степени изучена горчица сарептская (*Brassica juncea*, род *Brassica*), которая, судя по литературным данным, не только хорошо адаптируется к загрязнению почвы цинком, но и накапливает металл в больших количествах в надземных органах [3–5]. Ряд авторов относят этот вид к гипераккумуляторам этого металла [3, 5]. Механизмы устойчивости растений *B. juncea* к высоким концентрациям цинка в окружающей среде активно изучаются. В частности, обнаружено, что при высоких концентрациях этого металла у *B. juncea* усиливается активность некоторых транспортных белков, в том числе, транспортирующих ионы цинка в вакуоль,

белков-дегидринов [6], которые повышают металлоустойчивость растений за счет снижения интенсивности перекисного окисления липидов и защиты клеточных мембран [7] и возрастает содержание низкомолекулярных соединений [8]. Помимо этого выявлена важная роль антиоксидантной системы в адаптации растений этого вида к избытку цинка в корнеобитаемой среде [8–10].

В роде *Sinapis*, который филогенетически тесно связан с родом *Brassica* [11], также присутствуют виды, способные расти на загрязненных цинком почвах, в частности, горчица белая (*Sinapis alba*). Более того, растения этого вида могут накапливать металл в довольно больших количествах, хотя и не относятся к гипераккумуляторам, как *B. juncea* [12–14]. Вследствие этого, а также учитывая большую биомассу горчицы белой, в последнее время повысился интерес к ней как к перспективной для фиторемедиации культуре. К настоящему времени выявлены даже некоторые механизмы

устойчивости *S. alba* к высоким концентрациям цинка. Так, показано, что растения этого вида имеют высокий уровень экспрессии генов, кодирующих металлотионеины [15] и транспортные белки [16], что, вероятно, способствует их успешному росту в условиях повышения содержания этого металла в почве. Однако в целом устойчивость *S. alba* к тяжелым металлам изучена в гораздо меньшей степени, чем *B. juncea*.

Известно, что одним из важных механизмов устойчивости растений к стресс-факторам различной природы является активизация компонентов антиоксидантной системы, направленная на снижение количества активных форм кислорода и предотвращение развития окислительного стресса. При избытке цинка в окружающей среде у растений, как правило, повышается активность ряда антиоксидантных ферментов, в том числе, супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), аскорбатпероксидазы (АПО), гваяколяпероксидазы, глутатионредуктазы и увеличивается количество неферментных антиоксидантов, таких, например, как пролин, аскорбат, глутатион и др. [5, 17]. Что касается вклада антиоксидантной системы в устойчивость растений семейства *Brassicaceae* к высокому содержанию цинка, данных относительно немного, и они носят противоречивый характер. Например, у *B. napus* при воздействии цинка в концентрациях 50, 150 и 300 мкМ активность СОД возрастала [10], тогда как у этого же вида при схожих концентрациях этого металла (70, 140 и 280 мкМ) она не изменялась [18]. Активность КАТ у *B. rapa* и *B. chinensis* при использовании цинка в концентрации 200 мкМ возрастала [19, 20], а у *B. napus* сохранялась неизменной даже при более высокой концентрации металла (280 мкМ) [18].

Учитывая, что реакции разных видов растений семейства *Brassicaceae* на повышение концентрации цинка различны [10, 21], целью настоящего исследования было сравнительное изучение влияния избытка этого металла в корнеобитаемой среде на активность компонентов антиоксидантной системы у растений *B. juncea* и *S. alba*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на растениях горчицы сарептской (*Brassica juncea* L. (Czern.)) сорта Славянка и горчицы белой (*Sinapis alba* L.) сорта Бельгия. Семена были предоставлены Отделом генетических ресурсов масличных и прядильных культур Федерального исследовательского центра “Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова”.

Растения выращивали в условиях вегетационного опыта в сосудах с песком объемом 0.8 л. Плотность посева составляла 10 растений на сосуд. В опыте использовали промытый водой и

прокаленный песок. Цинк в субстрат добавляли перед началом опыта в виде его сернокислой соли ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) в концентрации 5 (контроль), 50, 100 или 150 мг/кг субстрата. Полив осуществляли питательным раствором Хогланда-Арнона (1/2 концентрации), не содержащим ионы цинка.

О влиянии избытка цинка на растения судили спустя 21 сут от посева по изменению (по отношению к контролю) показателей роста побега (высота, сырая и сухая биомасса), интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), активности ключевых антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ГвПО) и содержанию неферментных антиоксидантов (пролин, каротиноиды). Помимо этого, определяли содержание цинка в побегах растений.

Для измерения ростовых показателей использовали общепринятые методы. Интенсивность ПОЛ в листьях оценивали по накоплению МДА, содержание которого определяли по его способности реагировать с тиобарбитуровой кислотой, образуя окрашенный комплекс [22]. Оптическую плотность измеряли при 532 и 600 нм.

Для определения активности антиоксидантных ферментов навеску листьев 0.4 г гомогенизировали в 2 мл буфера (pH 7.5), который включал: HEPES (50 мМ), MgCl_2 (5 мМ), ЭДТА (0.4 мМ), ДТТ (3 мМ), PMSF (1 мМ), PVP (1%), глицерол (10%), после чего гомогенат центрифугировали 20 мин при 4°C и 14000 g. Активность СОД определяли методом, основанным на способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия [23], с модификацией [24]. Оптическую плотность измеряли при 560 нм. Активность КАТ определяли по ферментативному разложению пероксида водорода при 240 нм [24, 25]. Динамику изменения оптической плотности наблюдали в течение 5 мин, когда зависимость активности КАТ от времени была линейная. Об активности гваякол-специфичной пероксидазы (ГвПО) судили по увеличению оптической плотности при 470 нм в результате окисления гваякола до тетрагваякола в присутствии пероксида водорода [24, 26]. Содержание белка определяли по методу Бредфорда [27], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин.

Содержание пролина определяли методом Бейтса с соавт, основанного на реакции пролина с нингидрином с образованием окрашенного комплексного соединения [28]. Каротиноиды экстрагировали 80% ацетоном, их содержание рассчитывали по формулам D. Wettstein [29].

Содержание МДА, пролина и каротиноидов и активность антиоксидантных ферментов определяли на спектрофотометре СФ-2000 (“Спектр”, Россия).

Анализ содержания цинка в побегах растений проводился масс-спектрометрическим методом с

Таблица 1. Показатели роста побега у *B. juncea* и *S. alba* при разных концентрациях цинка в субстрате

Вид	Концентрация цинка в субстрате, мг/кг	Высота побега, см	Сырая биомасса, г	Сухая биомасса, г
<i>Brassica juncea</i>	5	23.63 ± 1.09b	1.28 ± 1.09a	0.13 ± 0.01a
	50	17.75 ± 0.71c	1.09 ± 0.12a	0.09 ± 0.01bc
	100	12.32 ± 0.85d	0.67 ± 0.10b	0.07 ± 0.01c
	150	8.61 ± 0.55e	0.39 ± 0.05b	0.04 ± 0.01d
<i>Sinapis alba</i>	5	26.22 ± 1.84a	1.27 ± 0.14a	0.11 ± 0.01ab
	50	23.49 ± 0.14b	1.36 ± 0.15a	0.11 ± 0.001ab
	100	11.66 ± 0.51d	0.46 ± 0.04b	0.05 ± 0.004dc
	150	6.94 ± 0.48f	0.27 ± 0.03c	0.03 ± 0.003d

Примечание. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые различия между средними значениями в пределах каждого показателя при $P < 0.05$.

Таблица 2. Содержание цинка (мг/кг) в побегах *B. juncea* и *S. alba* при разных его концентрациях в субстрате

Вид	Концентрация цинка в субстрате, мг/кг			
	5	50	100	150
<i>Brassica juncea</i>	77.48 ± 10.78	1450.23 ± 121.62	1849.71 ± 153.58	2239.21 ± 184.74
<i>Sinapis alba</i>	187.32 ± 20.60	2505.31 ± 206.02	2620.35 ± 215.22	3118.53 ± 311.08
<i>LSD</i> _{0.05}	25.96	133.06	252.06	371.04

Примечание. Различия между значениями достоверны при $P < 0.05$.

использованием ICP-MS (“Aligent”, США) с предварительным разложением образцов в растворе кислот $\text{HNO}_3 : \text{HCl}$ (4 : 1) в системе микроволнового разложения Berghof Speedwave Xpert Microwave Digestion System. Представленные в табл. 2 значения являются результатом анализа смешанной пробы ($n = 27$). Погрешность измерений ($\pm \Delta$) рассчитывали по формулам согласно сертифицированной методике [30].

Повторность в пределах одного варианта опыта 3–6 кратная, опыт повторяли не менее 3 раз. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения (ростовые показатели и содержание МДА) статистическую значимость между средними значениями устанавливали с помощью критерия Стьюдента. Достоверность различий между вариантами опыта по содержанию цинка в побегах растений выявляли с использованием метода наименьших квадратов ($\text{LSD}_{0.05}$). Когда распределение отличалось от нормального (активность ферментов) использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Данные на графиках и в таблицах представлены в виде средних арифметических значений и их стандартных ошибок (при $P < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что у растений *B. juncea* торможение роста побега наблюдалось уже при концентрации цинка 50 мг/кг субстра-

та. Дальнейшее повышение концентрации металла вызывало более сильный ингибирующий эффект на высоту побега и накопление биомассы. У *S. alba* рост побега замедлялся при использовании цинка в более высоких концентрациях (100 и 150 мг/кг субстрата) (табл. 1). Однако при наибольшей концентрации металла (150 мг/кг субстрата) у *S. alba* высота побега и сырая биомасса оказались более, чем в 3.5 и 4.5 раза, соответственно, меньше, чем в контроле, тогда как у *B. juncea* – менее, чем в 3 раза.

Как известно, ответная реакция растений на избыток цинка во многом зависит от его содержания в органах. В наших исследованиях содержание цинка в побегах обоих видов возрастало с увеличением концентрации металла в субстрате. При этом в побегах *S. alba* оно оказалось выше, чем у *B. juncea*, в том числе и при оптимальной концентрации металла в субстрате (5 мг/кг) (табл. 2).

Несмотря на высокие концентрации цинка в надземных органах, увеличения интенсивности ПОЛ у *B. juncea* не наблюдалось, о чем свидетельствует отсутствие изменений в содержании МДА даже при наиболее высокой концентрации металла. В отличие от этого у *S. alba* отмечено накопление МДА при 100 и 150 мг/кг цинка в субстрате (табл. 3), показывающее усиление интенсивности ПОЛ и развитие окислительного стресса.

Отсутствие изменений окислительно-восстановительного баланса клеток в стрессовых условиях может свидетельствовать об устойчивости растений к данному стрессору и/или об эффек-

Таблица 3. Содержание МДА (нмоль/г сырого веса) в листьях растений *B. juncea* и *S. alba* при разных концентрациях цинка в субстрате

Вид	Концентрация цинка в субстрате, мг/кг			
	5	50	100	150
<i>Brassica juncea</i>	2.04 ± 0.16a	1.93 ± 0.17a	2.55 ± 0.37a	2.04 ± 0.18a
<i>Sinapis alba</i>	1.98 ± 0.09b	2.10 ± 0.08b	2.77 ± 0.15a	2.67 ± 0.19a

Примечание. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые различия между средними значениями в пределах каждого вида при $P < 0.05$.

тивной работе компонентов антиоксидантной системы растений. Изучение активности антиоксидантных ферментов у двух представителей семейства *Brassicaceae* выявило, что ее изменение в значительной степени зависит от вида растений. Так, в условиях цинкового стресса активность СОД у растений *B. juncea* не изменялась (по сравнению с контролем) ни при одной из изученных концентраций металла (рис. 1а). В отличие от этого, у растений *S. alba* она возрастала (на 34% по сравнению с контролем) уже в присутствии металла в концентрации 50 мг/кг субстрата и при дальнейшем усилении стрессовой нагрузки сохранялась на этом же уровне.

Активность КАТ у растений *B. juncea* повышалась в присутствии цинка в концентрациях 50 и 100 мг/кг субстрата (на 28 и 14% по сравнению с контролем соответственно), однако дальнейшее увеличение концентрации (до 150 мг/кг субстрата) вызывало резкое снижение этого показателя. У растений *S. alba* независимо от концентрации металла в субстрате увеличения активности фермента не происходило (рис. 1б).

Активность ГвПО у обоих видов растений возрастала (по сравнению с контролем) уже в присутствии цинка в концентрации 50 мг/кг субстрата. При этом у *B. juncea* она повышалась в 1.5 раза по сравнению с контролем и при дальнейшем увеличении концентрации металла сохранялась практически неизменной. У *S. alba* активность фермента возрастала при использовании цинка в концентрациях 50 и 100 мг/кг субстрата в 6 и 9 раз соответственно, не изменяясь в дальнейшем (рис. 1в).

Важно также отметить, что в оптимальных условиях минерального питания (5 мг/кг субстрата) активность КАТ и ГвПО у растений *B. juncea* была гораздо выше, чем у *S. alba*.

Помимо антиоксидантных ферментов в защите клеток от избыточных количеств АФК большую роль играют неферментные компоненты АОС. Нами обнаружено, что у обоих изученных видов растений с увеличением концентрации цинка в субстрате возрастает содержание пролина в листьях, причем в большей степени у *S. alba* (табл. 4). Так, при наибольшей концентрации металла (150 мг/кг субстрата) у *B. juncea* оно повышалось в 2 раза по сравнению с контролем, а у *S. alba* — более, чем в 3 раза. Уве-

личения содержания каротиноидов у обоих видов в этих условиях не наблюдалось. Наоборот, оно снижалось у *B. juncea* на 28% по сравнению с контролем при использовании цинка в концентрации 150 мг/кг субстрата, а у *S. alba* — на 54%.

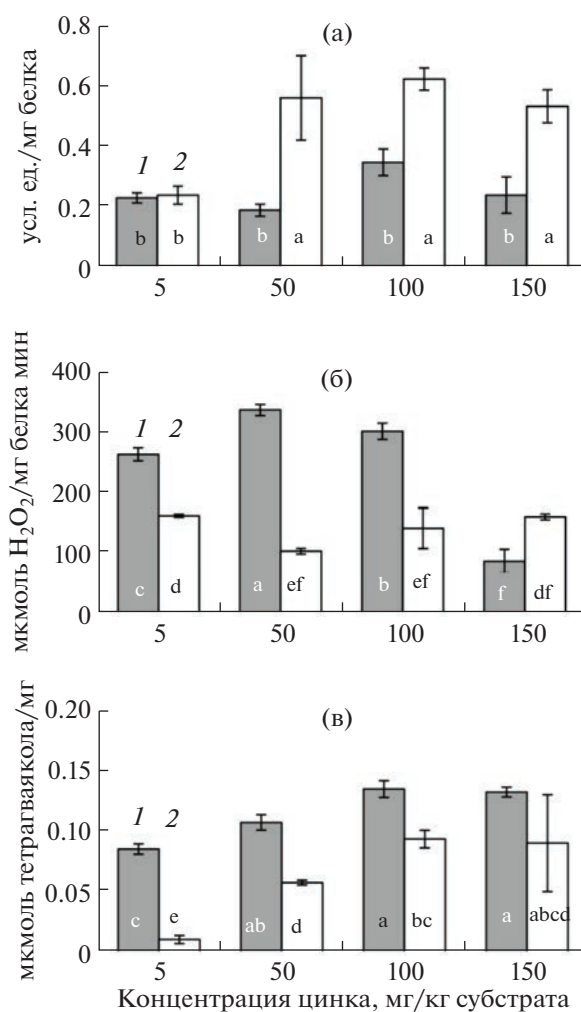


Рис. 1. Активность СОД (а), КАТ (б), ГвПО (в) в листьях 1 — *B. juncea* сорт Славянка и 2 — *S. alba* сорт Бельгия, при разных концентрациях цинка в субстрате. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые различия между средними значениями при $P < 0.05$.

Таблица 4. Содержание пролина и каротиноидов в листьях растений *B. juncea* и *S. alba* при разных концентрациях цинка в субстрате

Вид	Концентрация цинка в субстрате, мг/кг	Содержание пролина, ммоль/г сырого веса	Содержание каротиноидов, мг/г сырого веса
<i>Brassica juncea</i>	5	5.29 ± 0.62c	0.25 ± 0.01a
	50	12.16 ± 0.66ab	0.18 ± 0.01b
	100	18.11 ± 0.36a	0.15 ± 0.01c
	150	10.63 ± 0.44b	0.18 ± 0.01b
<i>Sinapis alba</i>	5	6.11 ± 0.30c	0.28 ± 0.01a
	50	16.40 ± 1.97a	0.25 ± 0.01a
	100	22.95 ± 5.59a	0.18 ± 0.01b
	150	19.16 ± 4.05a	0.13 ± 0.01c

Примечание. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые различия между средними значениями в пределах каждого показателя при $P < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что цинк в высоких концентрациях негативно сказывается на физиологических процессах у растений и снижает их продуктивность [5, 31]. Однако некоторые виды из семейства *Brassicaceae*, в том числе *B. juncea* и *S. alba*, способны адаптироваться к высоким концентрациям этого металла в окружающей среде, что обеспечивается наличием у них механизмов, действующих на разных уровнях организации. Одним из важных механизмов металлоустойчивости растений является активизация в стрессовых условиях антиоксидантной системы, направленной на ликвидацию избыточных количеств активных форм кислорода в клетке [17, 31].

В целом ряде исследований показано, что при избытке цинка у растений семейства *Brassicaceae* заметно усиливается интенсивность ПОЛ, свидетельствуя о развитии окислительного стресса [10, 14, 31]. Однако в наших опытах у *B. juncea* повышения (по отношению к контролю) содержания МДА не было обнаружено ни при одной из изученных концентраций металла несмотря на высокую (150 мг/кг) концентрацию металла в побегах, что, очевидно, можно объяснить высокой устойчивостью растений этого вида к цинку (табл. 2, 3). В отличие от этого, в листьях *S. alba* наблюдалось усиление интенсивности ПОЛ при воздействии цинка в концентрациях 100 и 150 мг/кг субстрата. При этом содержание металла в надземной биомассе было выше, чем у *B. juncea* (табл. 2, 3). В ряде работ показаны сходные данные по изученным видам. Так, у растений *B. juncea* интенсивность ПОЛ практически не изменялась даже при концентрации цинка 500 мкМ [10, 32], тогда как у *S. alba* при концентрации металла 200 мкМ наблюдалось значительное повышение количества МДА [14].

Известно, что важную роль в защите клеток от избыточных количеств активных форм кислорода играют антиоксидантные ферменты, в том числе СОД, КАТ и ГвПО. Так, утилизация супероксид-радикала осуществляется в реакции дисмутации при участии ферментов СОД, которые в клетках представлены тремя изоформами: Cu/Zn-СОД, Mn-СОД и Fe-СОД [10]. При увеличении содержания анион-радикала в стрессовых условиях активность СОД, как правило, увеличивается. В наших опытах у *B. juncea* повышения активности СОД не было обнаружено даже при высоких концентрациях цинка в корнеобитаемой среде (рис. 1a). Аналогичные данные были получены и другими авторами при концентрации металла 50 и 300 мкМ [4, 10]. Подобный эффект может быть связан с отсутствием количества субстрата, необходимого для работы фермента, поскольку, судя по отсутствию изменений ПОЛ, значительного повышения содержания АФК (в том числе, супероксид радикала) в клетках не происходило. Кроме того, при сохранении неизменной общей активности СОД, могут изменяться активности разных ее изоформ. Например, у *B. juncea* при концентрации цинка в субстрате 300 мкМ активность Cu/Zn-СОД повышалась, тогда как активность Mn-СОД и Fe-СОД при этом снижалась [10], что, по мнению авторов, обусловлено дефицитом марганца и железа, наблюдаемого при избытке цинка. У *S. alba* общая активность СОД возрастала (рис. 1a). Поскольку, у растений этого вида в клетках листа развивался окислительный стресс, о чем можно судить по содержанию МДА (табл. 3), усиление активности фермента было направлено на ликвидацию избыточных количеств анион-радикала.

Функция КАТ как антиоксидантного фермента состоит в разложении перекиси водорода с выделением молекулярного кислорода. В ряде работ показано, что у *B. juncea* при избытке цинка актив-

ность КАТ повышается, например, при использовании металла в концентрации 1500 и 2000 мкМ [4, 10]. В наших опытах активность КАТ у растений этого вида также возрастала при концентрациях металла 50 и 100 мг/кг субстрата (рис. 16). Поскольку активность СОД в этом варианте опыта не изменялась, повышение количества H_2O_2 и, как следствие, увеличение активности КАТ, могло быть связано с усилением активности других ферментов, например, оксалаксоксидазы, аминоксидаз и некоторых пероксидаз, проявляющих оксидазную активность [33].

Важно отметить, что у *S. alba*, несмотря на повышение активности СОД, увеличения активности КАТ не происходило (рис. 16). Наоборот, отмечалось некоторое ее снижение (по сравнению с контролем). Аналогичный эффект в листьях растений *S. alba* наблюдали также при концентрации цинка 500 и 1000 мг/кг субстрата, при которых двукратное повышение интенсивности ПОЛ сопровождалось снижением активности КАТ [14]. Возможно, это связано с тем, что определенный пул пероксида водорода должен поддерживаться в клетке, поскольку H_2O_2 играет важную роль в сигналинге [17, 33], а также участвует в лигнификации клеточных стенок [34], что является одним из механизмов адаптации растений к избытку цинка.

В детоксикации избытка перекиси, образуемой у *S. alba* в ходе реакции дисмутации, вероятно, участие принимал другой фермент — ГвПО, увеличение активности которого было обнаружено уже при концентрации металла 50 мг/кг субстрата (рис. 1в). Однако активность этого фермента повышалась и у *B. juncea* (рис. 1в), что отмечалось и другими авторами, например, при концентрации цинка 5000 и 10000 мкМ [9] и у *B. rapa* при содержании цинка в почве 30 мг/кг [35]. Увеличение активности ПО при отсутствии изменений или даже снижении активности КАТ, возможно, является следствием более высокого сродства этого фермента к субстрату (H_2O_2), по сравнению с КАТ.

Важно также отметить, что у *B. juncea* в оптимальных условиях минерального питания активность КАТ и ПО была значительно выше, чем у *S. alba* (рис. 16, в). Аналогичные сведения указаны также в работах других авторов, которые показали, что растения с более высокой активностью антиоксидантных ферментов в отсутствие воздействия тяжелых металлов оказались более устойчивы к повышению их уровня в окружающей среде, что связано с лучшей защитой клеток от окислительного стресса [36, 37].

Известно, что при воздействии цинка в высоких концентрациях у растений усиливается активность неферментных компонентов АОС [30]. В частности, у *B. juncea* в условиях избытка металла (200 мг/кг субстрата) отмечено увеличение со-

держания пролина, что коррелировало с образованием в клетке свободных радикалов [8]. В ответ на обработку цинком в концентрации 2000 мкМ увеличивалось содержание пролина у *B. napus* [38]. В наших исследованиях цинк в концентрациях 50, 100 и 150 мг/кг субстрата также приводил к накоплению пролина в листьях *B. juncea* и *S. alba* (табл. 4). Поскольку известно, что пролин, среди прочего, обладает антиоксидантным эффектом и способен снижать содержание АФК [5], увеличение его содержания у обоих видов растений отчасти способствовало сохранению окислительно-восстановительного равновесия в клетках. Функцией нейтрализации АФК обладают также каротиноиды. Однако в большинстве случаев при воздействии цинка наблюдается снижение их содержания [5, 17, 30]. В наших опытах у *B. juncea* и *S. alba* содержание каротиноидов также уменьшалось в присутствии цинка в высоких концентрациях, причем в большей степени у *S. alba* (табл. 4). Ингибирующее действие избытка цинка на содержание пигментов, возможно, связано с некоторыми изменениями (нарушениями) в фотосинтетическом аппарате, например, с торможением их синтеза или нарушением работы фотосистемы II, что было обнаружено у *B. chinensis* и *B. alboglabra* [39]. Это могло быть также одной из причин торможения роста растений и уменьшения накопления ими биомассы в стрессовых условиях.

В целом, растения *B. juncea* и *S. alba* способны расти при избытке цинка в субстрате и при этом накапливать его в листьях в высоких концентрациях. Этому во многом способствует увеличение активности антиоксидантных ферментов и пролина, направленное на сохранение окислительно-восстановительного баланса клеток. При этом более высокая активность ферментов КАТ и ГвПО у растений *B. juncea* в отсутствие действия цинка и дальнейшее ее увеличение при возрастании концентрации металла в субстрате, а также увеличение содержания пролина способствовало сохранению интенсивности ПОЛ на уровне контроля. У растений *S. alba* повышение активности СОД и ПО, а также увеличение содержания МДА при воздействии цинка в концентрациях 100 и 150 мг/кг субстрата свидетельствует о развитии окислительного стресса в условиях избытка металла в субстрате. Меньшее снижение показателей роста побега у *B. juncea* по сравнению с *S. alba* позволяет сделать вывод о большей устойчивости растений этого вида к цинку в изученных концентрациях.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22–24–00668). В работе использовано оборудование Центра кол-

лестивного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mourato P.M., Moreira I.N., Leitão I., Pinto F.R., Sales J.R., Martins L.L. Effect of heavy metals in plants of the genus *Brassica* // IJMS. 2015. V. 16. P. 17975. <https://doi.org/10.3390/ijms160817975>
2. Zeremski T., Randelović D., Jakovljević K., Jeromela A.M., Milić S. *Brassica* species in phytoextractions: real potentials and challenges // Plants. 2021. V. 10. P. 2340. <https://doi.org/10.112340>
<https://doi.org/10.3390/plants>
3. Bortoloti G.A., Baron D. Phytoremediation of toxic heavy metals by *Brassica* plants: A biochemical and physiological approach // Environ. Adv. 2022. V. 8. P. 100204. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100204>
4. Małecka A., Konkolewska A., Hanć A., Barańkiewicz L.C., Ratajczak E., Staszak A.M., Kmita H., Jarmuszkiewicz W. Insight into the phytoremediation capability of *Brassica juncea* (v. Malopolska): metal accumulation and antioxidant enzyme activated // IJMS. 2019. V. 20. P. 4355. <https://doi.org/10.3390/ijms20184355>
5. Balafrej H., Bogusz D., Triqui Z.A., Guedira A., Bendaou N., Smouni A., Fahr M. Zinc hyperaccumulation in plants: a review // Plants. 2020. V. 9. P. 562. <https://doi.org/10.3390/plants9050562>
6. Xu J., Chai T., Zhang Y., Lang M., Han L. The cation-efflux transporter BjCET2 mediates zinc and cadmium accumulation in *Brassica juncea* L. leaves // Plant Cell Rep. 2009. V. 28. P. 1235. <https://doi.org/10.1007/s00299-009-0723-1>
7. Xu J., Zhang Y.X., Wei W., Han L., Guan Z.Q., Wang Z., Chai T.Y. BjDHNs confer heavy-metal tolerance in plants // Mol. Biotechnol. 2008. V. 38. P. 91. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-9005-8>
8. Khan M.I.R., Jahan B., Alajmi M.F., Rehman M.T., Khan N.A. Exogenously sourced ethylene modulates defense mechanisms and promotes tolerance to zinc stress in mustard (*Brassica juncea* L.) // Plants. 2019. V. 8. P. 540. <https://doi.org/10.3390/plants8120540>
9. Prasad K.V.S.K., Saradhi P.P., Sharmila P. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea* // Environ. Exp. Bot. 1999. V. 42. P. 1.
10. Feigl G., Kolbert Z., Lehotai N., Molnár Á., Ördög A., Bordé Á., Laskay G., Erdei L. Different zinc sensitivity of *Brassica* organs is accompanied by distinct responses in protein nitration level and pattern // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 125. P. 141. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.006>
11. Du X., Zeng T., Feng Q., Hu L., Luo X., Weng Q., He J., Zhu B. The complete chloroplast genome sequence of yellow mustard (*Sinapis alba* L.) and its phylogenetic relationship to other *Brassicaceae* specie set // Gene. 2020. V. 731. P. 144340. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144340>
12. Stanisławska-Głubiak E., Karzeniowska J. Tolerance of white mustard (*Sinapis alba* L.) to soil pollution with several heavy metals // Ecol. Chem. Eng. A. 2001. V. 8. P. 445.
13. Zalewska M., Nogalska A. Phytoextraction potential of sunflower and white mustard plants in zinc-contaminated soil // Chil. J. Agric. Res. 2014. V. 74. P. 485. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392014000400016>
14. Soleimannejad Z., Sadeghipour H.R., Abdolzadeh A., Gholipour M. Physiological responses of white mustard grown in Zn-contaminated soilset // Acta Physiol. Plant. 2020. V. 42. P. 131. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03119-8>
15. Juskulak M., Grobelak A., Grosser A., Vandenbulcke F. Gene expression, DNA damage and other stress markers in *Sinapis alba* L. exposed to heavy metals with special reference to sewage sludge application on contaminated sites // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2019. V. 181. P. 508. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.025>
16. Juskulak M., Grobelak A., Vandenbulcke F. Effects of sewage sludge supplementation on heavy metal accumulation and the expression of ABC transporters in *Sinapis alba* L. during assisted phytoremediation of contaminated sites // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2020. V. 197. P. 110606. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110606>
17. Sharama Sh.S., Dietz K.J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance // Trends Plant Sci. 2008. V. 14. P. 43. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.007>
18. Wang Ch., Zhang S.H., Wang P.F., Hou J., Zhang W.J., Li W., Lin Zh.P. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings // Chemosphere. 2009. V. 75. P. 1468. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.033>
19. Yang H., Zhang J., Li J. Physiological response to zinc pollution of rape (*Brassica chinensis* L.) in paddy soil ecosystem // Adv. Mater. 2011. V. 356. P. 39. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.356-360.39>
20. Blasco B., Graham N.S., Broadley M.R. Antioxidant response and carboxylate metabolism in *Brassica rapa* exposed to different external Zn, Ca, and Mg supply // J. Plant Physiol. 2015. V. 176. P. 16. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.07.029>
21. Du J., Guo Zh., Li R., Ali A., Guo D., Lahori A.H., Wang P., Liu X., Wang X., Zhang Z. Screening of Chinese mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars for the phytoremediation of Cd and Zn based on the plant physiological mechanisms // Environ. Pollut. 2020. V. 216. P. 114213. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114213>
22. Stewart R.C., Bewley J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // Plant Physiol. 1980. V. 65. P. 245. <https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245>
23. Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. 1971. V. 44. P. 276.
24. Ershova M.A., Nikerova K.M., Galibina N.A., Sofronova I.N., Borodina M.N. Some minor characteristics of spectrophotometric determination of antioxidant system and

- phenolic metabolism enzyme activity in wood plant tissues of *Pinus sylvestris* L. // Protein Pept. Lett. 2022. V. 9. P. 711.
<https://doi.org/10.2174/0929866529666220414104747>
25. Aebi H. Catalase in vitro // Methods in Enzymol. 1984. V. 105. P. 121.
26. Maehly A.C. The assay of catalase and peroxidase // Meth. Biochem. Anal. 1954. V. 1. P. 357.
27. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248.
28. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205.
29. Wintermans J.E.G., De Mots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll *a* and *b* and their phaeophytins in ethanol // Biochim. Biophys. Acta. 1965. V. 109. P. 448.
[https://doi.org/10.1016/0926-6585\(65\)90170-6](https://doi.org/10.1016/0926-6585(65)90170-6)
30. НСАМ №499-АЭС/МС. Определение элементного состава горных пород, почв, грунтов и донных отложений атомно-эмиссионным с индуктивно связанной плазмой и массспектральным с индуктивно связанной плазмой методами (ред. 2015).
31. Natasha N., Shanid M., Bibi I., Iqbal J., Khalid S., Mur-taza B., Bakhat H.F., Farooq A.B.U., Amjad M., Ham-mad H.M., Niazi N.Kh., Arshad M. Zinc in soil-plant-human system: A data-analysis review // Sci. Total Environ. 2022. V. 808. P. 152024.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152024>
32. Alia Prasad K.V.S.K., Saradhi P.P. Effect of zinc on free radicals and proline in *Brassica* and *Cajanus* // Phytochem. 1995. V. 39. P. 45.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00919-K](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00919-K)
33. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. 2002. V. 7. P. 405.
34. Schutzendubel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhizatin // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 1351.
35. Dai H., Wei Sh., Skuza L., Jia G. Selenium spiked in soil promoted zinc accumulation of Chinese cabbage and improved its antioxidant system and lipid peroxidation // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2019. V. 180. P. 179.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.017>
36. Srivastava M., Ma L.Q., Singh N., Singh Sh. Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic // J. Exp. Bot. 2005. V. 56. P. 1335.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eri134>
37. Mohmoud A., Elgawad H.A., Hamed B.A., Beemster G.T.S., El-Shafey N.M. Differences in cadmium accumulation, detoxification and antioxidant defenses between contrasting maize cultivars implicate a role of superoxide dismutase in Cd tolerance // Antioxidants. 2021. V. 10. P. 1812.
<https://doi.org/10.3390/antiox10111812>
38. Ghnaya A.B., Hourmant A., Cerantola S., Kervarec N., Cabon J.Y., Branchard M., Charles G. Influence of zinc on soluble carbohydrate and free amino acid levels in rapeseed plants regenerated in vitro in the presence of zinc // Plant Cell, Tissue Organ Cult. 2010. V. 102. P. 191.
<https://doi.org/10.1007/s11240-010-9721-9>
39. Lin M.Z., Jin M.F. Soil Cu contamination destroys the photosynthetic systems and hampers the growth of green vegetables // Photosynthetica. 2018. V. 56. P. 1336.
<https://doi.org/10.1007/s11099-018-0831-7>