

**ВЛИЯНИЕ Cu^{2+} НА ИОНООБМЕННЫЕ СВОЙСТВА
КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК КОРНЕЙ И ПОБЕГОВ ВИКИ
НАРБОНСКОЙ****Н.Р. Мейчик, О.В. Никушин, Ю.И. Николаева, М.А. Кушунина**

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Поступила в редакцию 08.04.2024 г.

Аннотация. Клеточные стенки (КС) растений являются компартментом, физико-химические характеристики которого определяют его участие в процессах первичного поглощения элементов минерального питания. Они первыми контактируют с внешним раствором с избыточной концентрацией токсичного металла, и поэтому являются важным барьером на пути его проникновения в протопласт благодаря тому, что КС является природным катионообменником. Однако информация о влиянии повышенных концентраций Cu^{2+} в среде на ионообменные свойства КС корней и побегов растений крайне ограничена.

Цель настоящей работы состояла в оценке ионообменных свойств КС, изолированных из корней и побегов растений вики (*Vicia narbonensis* L.), и в установлении влияния 24-часовой обработки растений ионами Cu^{2+} на эти свойства. В экспериментах использовали 9(10)-дневные растения, выращенные на растворе с низким содержанием элементов минерального питания.

Выделение полимерного матрикса КС проводили из корней и надземных частей растений по описанному ранее методу. Для определения количественного и качественного состава ионообменных групп в КС применяли метод потенциометрического титрования.

Определены ионообменные свойства КС, изолированных из побегов и корней контрольных растений вики, а также растений после 24-часовой инкубации на растворе 100 мкМ CuCl_2 (опытные растения). Установлено, что КС и контрольных, и опытных растений содержат три типа катионообменных групп: карбоксильные группы полигалактуроновой (ПГК) и гидроксикоричных (ГКК) кислот и фенольные ОН-группы. Определены значения pK_a функциональных групп каждого типа и показано, что ионообменная способность КС при физиологических значениях pH определяется наличием в составе ее полимеров двух типов карбоксильных групп – полигалактуроновой и гидроксикоричных кислот (ПГК и ГКК). Установлено, что у контрольных растений в КС надземной части содержание карбоксильных групп ПГК и ГКК в 1,2 и 1,4 раза больше, соответственно, чем в КС корней. Содержание фенольных ОН-групп в КС корней в 1,5 раза ниже, чем в КС побегов. В ответ на обработку ионами Cu^{2+} ионообменная способность КС и корней, и побегов практически не изменяется, но на 38% увеличивается содержание фенольных ОН-групп в корнях и значительно возрастает (с 40 до 58%) массовая доля КС в общей массе как побега, так и корня.

Ключевые слова: *Vicia narbonensis*, тяжелые металлы, клеточная стенка, ионообменные свойства, ионы меди.

В настоящее время загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ) является серьезной экологической проблемой. Для растений ТМ в высоких концентрациях становятся мощными ингибиторами жизненных процессов, вызывают множественные нарушения метаболизма, снижение про-

дукционного потенциала и даже гибель [1, 2, 3]. Избыток ТМ в растительных клетках вызывает широкий спектр токсических реакций: деструкцию клеточных мембран, нарушение организации цитоскелета и ингибирование ферментов и, как следствие, ингибирование процессов фотосинтеза, дыхания, клеточного деления, ионного транспорта и т.д. В то же время, некоторые из ТМ

являются необходимыми элементами для жизнедеятельности растений.

Медь является необходимым микроэлементом для всех растений. В качестве кофактора она входит в состав многих ферментов и белков, таких как цитохромоксидаза электрон-транспортной цепи митохондрий, пластоцианин, некоторые формы супероксиддисмутаза.

Клеточные стенки (КС) растений являются компартментом, химические, физические и физико-химические характеристики которого определяют его участие в процессах первичного поглощения элементов минерального питания. Они первыми контактируют с внешним раствором с избыточной концентрацией токсичного металла, и поэтому являются важным барьером на пути его проникновения в протопласты клеток растений благодаря тому, что КС является природным катионообменником [4].

В литературе имеется информация об исследовании ионообменных свойств КС корней растений [5], однако для побегов эти свойства исследованы в единичных работах. Так, показано, что у ячменя (*Hordeum vulgare* L.) металл-связывающая способность КС побегов в 1,5 раза выше, чем корней, а в ответ на присутствие в среде ТМ происходит модификация КС побегов, заключающаяся в увеличении содержания свободных карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты, в то время как количественный состав ионообменных групп в КС корней в этих условиях не изменяется [6]. Сравнительное исследование ионообменных свойств полимерного матрикса КС, изолированных из корней и надземных органов растений нута (*Cicer arietinum* L. cv. Bivani j и *Cicer arietinum* L. cv. ПС 482), отличающихся различной чувствительностью к засолению [7], показало, что независимо от уровня засоления внешней среды способность КС к обмену катионов возрастает в ряду: стебель > корень ~ листья нижнего яруса > листья верхнего яруса.

КС корней вики (*Vicia narbonensis* L.) характеризуются высоким содержанием карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты, что обуславливает их высокую связывающую способность в отношении ионов меди [8]. Часть ионов меди проникает в побег растения, где взаимодействует с ионообменными группами КС этого органа. Однако ионообменные свойства КС побегов вики остаются нераскрытыми, а влияние повышенных концентраций Cu^{2+} в среде на ионообменные свойства корней и побегов этого растения не установлено.

Цель настоящей работы состояла в оценке ионообменных свойств КС, изолированных из корней и побегов *V. narbonensis*, и в установлении влияния повышенных концентраций Cu^{2+} в среде на эти свойства.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служили растения вики нарбонской сорта Sel2384. Растения выращивали в водной культуре в климатической камере (24°C, интенсивность света ~ 110 мкмоль/м²×с, 14-часовой день) при постоянной аэрации растворов и их замене каждые 7 дней. В экспериментах использовали 9(10)-дневные растения, выращенные на растворе с низким содержанием элементов минерального питания (~ 0,2 мМ K^+ , NO_3^- и PO_4^{3-}) и pH 6,5±0,5.

Выделение полимерного матрикса КС проводили из интактных корней и надземных частей растений по описанному ранее методу [7]. Навески органов (~2 г) помещали в колбы и промывали последовательно 95% этанолом (~0,1 л, в течение 24 ч, при постоянном перемешивании), 1%-ным раствором NaOH (~0,3 л, в течение 24 ч, при постоянном перемешивании), H₂O (~2 л), 1%-ным раствором HCl (~0,3 л, в течение 24 ч, при постоянном перемешивании) и дистиллированной водой до исчезновения в промывных водах хлорид-ионов, а затем препараты КС высушивали при 60°C до постоянного веса.

Исследование природы ионогенных групп в составе КС корней и побегов проводили методом потенциометрического титрования [9], при постоянной ионной силе раствора (10 мМ), которую создавали добавлением соответствующих количеств NaCl. Число типов ионообменных групп в КС (j), а также их количество (ΔS^j) определяли по дифференциальным кривым ($dS^j/dpH_i = f(pH_i)$) [9]. Степень ионизации (α_j) для каждой группы рассчитывали по формуле:

$$\alpha_j = S^j / \Delta S^j, \quad (1)$$

где ΔS^j и S^j , мкмоль/г сухой массы КС – общее содержание групп j -го типа и содержание диссоциированных групп j -го типа в КС при pH_i .

Чтобы рассчитать константу ионизации для каждой ионообменной группы, использовали модифицированное Грегором уравнение Хендерсона-Хассельбаха:

$$pH = pK_a + n \lg(\alpha / (1 - \alpha)), \quad (2)$$

где pK_a – кажущаяся константа ионизации ионообменной группы полимера; α – степень ее ионизации; n – константа, зависящая от строения полимерной матрицы и природы противоиона [9].

Используя установленные значения параметров (ΔS^j , pK_a^j , n^j), рассчитывали S_i^{pac} по суммарному уравнению [9]:

$$S_i^{pac} = S_o^{kam} - \sum_{j,i=1}^{k,m} \frac{\Delta S^j}{1 + 10^{\frac{pK_a^j - pH_i}{n^j}}} \quad (3)$$

где S_i^{pac} – расчетное значение ионообменной способности КС при соответствующем значении pH_i ; S_o^{kam} – максимальная катионообменная способность КС; ΔS^j – содержание ионообменных групп j -го типа; S_i^{pac} , S_o^{kam} и Δ выражены в мкмоль/г сухой массы КС; pK_a^j – кажущаяся константа ионизации ионообменных групп j -го типа; n^j – константа уравнения (2) для ионообменных групп j -го типа; k – число точек на потенциометрической кривой, m – число типов ионообменных групп.

Адекватность примененного подхода к описанию кислотно-основного равновесия оценивали методом регрессионного анализа, определяя параметры уравнения:

$$S_i^{расч} = B \times S_i^{эксн} + A \quad (4)$$

где $S_i^{расч}$ и $S_i^{эксн}$, мкмоль/г сухой массы КС, – рассчитанная по уравнению (3) и экспериментально определенная ионообменная способность при соответствующем значении pH_i ; A и B – параметры регрессии.

Долю сухой массы КС ($D_{КС}$) в общей сухой массе корней или побегов (%) определяли по формуле:

$$D_{КС} = (G_{КС \text{ корни(поб)}} / G_{\text{корни(поб)}}) \quad (5)$$

где $G_{\text{корни(поб)}}$ и $G_{КС \text{ корни(поб)}}$ – сухая масса корней или побегов и выделенных из них КС соответственно.

Для установления влияния повышенных концентраций Cu^{2+} в среде выращивания на катионообменные свойства КС растения 9-дневного

возраста, выращенные как указано выше, перенесли в сосуды объемом 150 мл (по 9 растений в каждом сосуде) с растворами $CuCl_2$ с концентрацией 100 мкМ ($pH \ 5,0 \pm 0,1$). Сосуды с опытными растениями выдерживали в климатической камере 24 ч при непрерывной аэрации растворов. Контрольные растения выдерживали 24 ч на исходных питательных растворах без добавления $CuCl_2$ (концентрация $Cu^{2+} \leq 0,5$ мкМ). По истечении 24 ч опытные и контрольные растения извлекали из раствора, разделяли на корни и побеги и выделяли из них КС как описано выше.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics, MassLynx, R studio и языка программирования R. Достоверность различий между изучаемыми показателями определяли с помощью двухвыборочного t -критерия Уэлча. Для количественной оценки тесноты связи между исследованными показателями использовали коэффициент корреляции ($r_{\text{согг.}}^j$)².

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Экспериментальные кривые потенциометрического титрования имели сложную полисигмоидную форму, что свидетельствовало о наличии в составе структурных полимеров КС нескольких типов ионообменных групп [9]. При $pH > 10,8$ значения катионообменной способности КС по Na^+ достигали максимального уровня ($S_o^{кат}$, табл. 1). Это означает, что все ионогенные группы заняты Na^+ , а $S_o^{кат}$ характеризует общее количество кис-

Таблица 1

Параметры модифицированного Грегором уравнения Хендерсона-Хассельбаха [уравнение 2] для ионообменных групп в полимерном матриксе клеточных стенок корней и побегов контрольных и опытных растений *V. narbonensis*

Орган	j	pK_a^j	n^j	$(r_{\text{согг.}}^j)^2$	ΔS^j	$S_o^{кат}$
Побеги (Контроль)	1	$4,78 \pm 0,04$	1,13	0,995	600 ± 42	2200 ± 70
	2	$7,64 \pm 0,15$	0,99	0,988	600 ± 45	
	3	$9,88 \pm 0,35$	1,05	0,971	1000 ± 78	
Побеги (100 мкМ Cu)	1	$4,80 \pm 0,04$	1,03	0,990	650 ± 50	2200 ± 60
	2	$7,59 \pm 0,15$	1,02	0,975	550 ± 40	
	3	$10,0 \pm 0,35$	1,05	0,913	1000 ± 53	
Корни (Контроль)	1	$4,06 \pm 0,03$	1,27	0,997	520 ± 25	1590 ± 45
	2	$7,26 \pm 0,20$	1,11	0,925	420 ± 35	
	3	$10,3 \pm 0,20$	0,83	0,960	650 ± 35	
Корни (100 мкМ Cu)	1	$4,59 \pm 0,15$	0,98	0,973	500 ± 30	1800 ± 100
	2	$7,10 \pm 0,20$	1,03	0,996	400 ± 25	
	3	$9,65 \pm 0,40$	1,08	0,905	900 ± 50	

Примечание. j – тип группы (1 – карбоксильные группы полигалактуроновой кислоты, 2 – карбоксильные группы гидроксикоричных кислот, 3 – фенольные ОН-группы); $S_o^{кам}$, мкмоль/г сухой массы клеточных стенок – общее количество катионообменных групп; n^j – константа уравнения (3); $(r_{\text{согг.}}^j)^2$ – коэффициент корреляции зависимости $pH_i = f(\lg[\alpha^j / (1 - \alpha^j)])$; ΔS^j , мкмоль/г сухой массы клеточных стенок – количество ионогенных групп j -го типа. В таблице представлены средние значения из трех измерений \pm стандартные отклонения.

лотных групп, которые имеются в полимерной структуре КС исследуемого растения. Эти группы могут включаться в реакции ионного обмена при соответствующих значениях pH среды. Следует отметить, что анионообменные группы, которые, как правило, обнаруживаются на потенциометрических кривых КС корней и побегов растений других видов [5], не выявлены у растений вики, что может быть обусловлено большим содержанием карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты в КС, которые экранируют диссоциацию аминогрупп.

Анализ данных потенциометрического титрования препаратов изолированных КС показывает, что рассчитанные значения ионообменной способности КС (уравнение 3) полностью соответствуют полученным экспериментальным данным, о чем свидетельствуют величины коэффициентов корреляции (r^2) зависимости $S_i^{расч} = f(S_i^{эксн})$ и коэффициенты регрессии B , близкие к единице (уравнение 4) и для контрольных ($B = 0,94$; $r^2 = 0,994$), и для опытных ($B = 1,03$; $r^2 = 0,993$) растений.

В соответствии с полученными результатами КС и побегов, и корней исследуемых растений содержат три типа катионообменных групп. Как показано ранее для других видов растений [5], значения pK_a 4,5–5,1 соответствуют карбоксильным группам полигалактуроновой кислоты (ПГК), значения pK_a 7,3–7,8 – карбоксильным группам гидроксикоричных кислот (ГКК), а значения pK_a 9,8–10,2 – фенольным ОН-группам. Последние не принимают участие в ионообменных реакциях, так как значение pK_a этих групп лежит за пределами физиологической области (pH 4–8, табл. 1). Полученные результаты свидетельствуют о том, что качественный состав ионообменных групп в КС побегов и корней контрольных и опытных (после 24 ч поглощения $CuCl_2$) растений не различается, так как pK_a^j соответствующих катионообменных групп имеют близкие значения.

Клеточные стенки и корней, и побегов растений имеют одинаковый качественный состав катионообменных групп, однако в надземной части контрольных растений содержание карбоксильных групп ПГК, карбоксильных групп ГКК и фенольных ОН-групп в КС соответственно в 1,2, 1,4 и 1,5 раза больше, чем в КС корней (табл. 1). Следует также отметить, что КС и корней, и побегов вики характеризуются высоким содержанием карбоксильных групп ПГК в составе пектинов, что характерно для бобовых растений [5].

Присутствие в среде выращивания ионов меди мало влияет на ионообменные свойства КС побегов

и корней вики, так как содержание карбоксильных групп ПГК и ГКК, которые определяют ионообменную способность КС, у обработанных растений снижается менее чем на 4% по сравнению с контрольными (табл. 1). Однако в КС корней опытных растений на 38% увеличивается содержание фенольных ОН-групп, принадлежащих мономерам лигнина. Следует отметить, что увеличение содержания лигнина в тканях корня при избытке Cu^{2+} в среде было показано и для других бобовых [10, 11]. Авторы указанных работ полагают, что лигнификация КС повышает ее жесткость и возможно затрудняет диффузию катионов меди к карбоксильным группам ПГК.

Действие ионов меди заметно проявляется в значительном увеличении массовой доли КС в общей массе и побега, и корней (от 40 до 58%, табл. 2), при этом следует отметить, что инкубация растений в среде с концентрацией $CuCl_2$ 100 мкМ в течение 24 часов не приводит к статистически значимому снижению сухой массы корней и их оводненности по сравнению с контролем [8].

Таблица 2

Влияние концентрации меди в среде инкубации на массовую долю клеточной стенки корней и побегов ($D_{КС}$, уравнение 5) в общей массе органа контрольных и опытных растений *V. narbonensis*

Орган	$D_{КС}$
Побеги (Контроль)	46,2±0,3 ^a
Побеги (100 мкМ Cu)	58,9±0,4 ^b
Корни (Контроль)	46,2±0,3 ^a
Корни (100 мкМ Cu)	59,2±0,6 ^b

Примечание. Приведены средние значения из 9-12 измерений ± стандартные ошибки. Значения с одинаковыми буквами не отличаются в соответствии с t-критерием Уэлча для независимых выборок с уровнем вероятности $p > 0,05$. Значения с разными буквами указывают на значительные различия с $p \leq 0,05$.

Известно, что в ответ на избыток ТМ в среде растения могут реализовывать две различные стратегии модификации пектинов КС. Первая из них, обнаруженная большей частью у чувствительных к воздействию ТМ сортов и видов растений и направленная на ограничение накопления металла в корнях, заключается в увеличении содержания деметилированных пектинов в апопласте при воздействии таких ТМ, как Pb, Cd и Cu, а также алюминия [12, 13, 14]. Вторая, напротив, заключается в уменьшении содержания деметилированных пектинов в КС в ответ на избыток металла в среде [12, 13, 15, 16]. У маша (*Vigna radiata* L., сем. Бобовые) в ответ на присутствие в среде выращивания Cu^{2+} в концентрации 10 мкМ была выявлена модифика-

ция КС корней, снижающая ее катионообменную способность за счет или уменьшения содержания карбоксильных групп ПГК, или возрастания степени их метилирования [16].

В отличие от маша у *V. narbonensis* содержание карбоксильных групп ПГК в КС побегов и корней опытных растений мало изменялось (4%) по сравнению с контролем (табл. 1), что свидетельствует о том, что присутствие повышенной концентрации Cu^{2+} в среде мало влияет на степень метилирования пектиновых полимеров КС. При этом возрастание массовой доли КС в общей массе и побега, и корня может свидетельствовать о реализации стратегии защиты, которая заключается в усилении интенсивности биосинтеза пектинов с той же степенью метилирования, как у контрольных растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами выявлен ответ КС растений *V. narbonensis* на присутствие в среде повышенных концентраций ионов меди, который заключается в увеличении массовой доли КС в общей массе и побега, и корней. Присутствие в среде инкубации ионов меди в концентрации 100 мкМ (1) не влияет на качественный состав ионообменных групп в КС побегов и корней *V. narbonensis*; (2) незначительно снижает (4%) ионообменную способность КС корней и побегов, которая определяется содержанием карбоксильных групп полигалактуроновой и гидроксикоричных кислот; но (3) значительно увеличивает количество фенольных ОН-групп в КС корней, принадлежащих мономерам в составе лигнина. Сравнительная оценка состава ионообменных групп полимерного матрикса КС побегов и корней вики показывает, что в надземной части содержание всех типов ионообменных групп больше, чем в корнях. Полученные данные расширяют понимание роли КС в защите растений от действия Cu^{2+} .

Работа выполнена в соответствии с НИР кафедры физиологии растений биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (№ 121032300068-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kumar V. Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review / V. Kumar, S. Pandita, G.P. Singh Sidhu, A. Sharma, K. Khanna, P. Kaur, A.S. Bali, R. Setia // *Chemosphere*. – 2021. – Vol. 262, 127810.
2. Mansoor S. Heavy metal induced oxidative stress mitigation and ROS scavenging in plants / S. Mansoor, A. Ali, N. Kour, J. Bornhorst, K. AlHarbi, J.

Rinklebe, D. Abd El Moneim, P. Ahmad, Y.S. Chung // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – № 16. – P. 3003.

3. Chen G. Physiological and molecular mechanisms of plant responses to copper stress / G. Chen, J. Li, H. Han, R. Du, X. Wang // *International Journal of Molecular Science*. – 2022. – Vol. 23, 12950.

4. Haynes R.J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplast. Their role in ion accumulation by plants // *Botanical Review*. – 1980. – Vol. 46. – P. 75-99.

5. Meychik N. The significance of ion-exchange properties of plant root cell walls for nutrient and water uptake by plants / N. Meychik, Y. Nikolaeva, M. Kushunina // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2021. – Vol. 166. – P. 140-147.

6. Мейчик Н. Р. Влияние полиметаллического загрязнения на ионообменные свойства клеточных стенок корней и побегов ячменя / Н. Р. Мейчик, Ю. И. Николаева, О. В. Никушин, М. А. Кушунина // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 501. – № 1. – С. 547-550.

7. Мейчик Н. Р. Ионообменные свойства клеточных стенок у сортов нута с различной чувствительностью к засолению / Н. Р. Мейчик, И. П. Ермаков, С. Д. Хонарманд, Ю. И. Николаева // *Физиология растений*. – 2010. – Т. 57. – № 5. – С. 665-675.

8. Мейчик Н. Р. Роль физико-химических свойств клеточных стенок корней в поглощении меди растениями вики нарбонской / Н. Р. Мейчик, Ю. И. Николаева, О. В. Никушин, М. А. Кушунина // *Биофизика*. – 2021. – Т. 66. – № 1. – С. 137-146.

9. Мейчик Н. Р. Расчет константы ионизации функциональных групп карбоксильных ионитов / Н. Р. Мейчик, С. И. Степанов, Ю. И. Николаева // *Журнал физической химии*. – 2018. – Т. 92. – № 2. – С. 251-256.

10. Lin C.-C. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots / C.-C. Lin, L.-M. Chen, Z.-H. Liu // *Plant Science*. – 2005. – Vol. 168. – P. 855-861.

11. Wang S.-H. Copper-induced oxidative stress and responses of the antioxidant system in roots of *Medicago sativa* / S.-H. Wang, H. Zhang, Q. Zhang, G.-M. Jin, S.-J. Jiang, D. Jiang, Q.-Y. He, Z.-P. Li // *Journal of Agronomy and Crop Science*. – 2011. – Vol. 197. – P. 418-429.

12. Colzi I. Copper tolerance strategies involving the root cell wall pectins in *Silene paradoxa* L. / I. Colzi, M. Arnetoli, A. Gallo, S. Doumet, M. Del

Bubba, S. Pignattelli, R. Gabbrielli, C. Gonnelli // Environmental and Experimental Botany. – 2012. – Vol. 78. – P. 91-98.

13. Eticha D. Cell-wall pectin and its degree of methylation in the maize root-apex: significance for genotypic differences in aluminum resistance / D. Eticha, A. Stass, W. J. Horst // Plant, Cell & Environment. – 2005. – Vol. 28. – P. 1410-1420.

14. Parrotta L. Target or barrier? The cell wall of early- and later-diverging plants vs cadmium toxicity: differences in the response mechanisms / L. Parrotta,

G. Guerriero, K. Sergeant, G. Cai, J.-F. Hausman // Frontiers in Plant Science. – 2015. – Vol. 6. – P. 1-16.

15. Konno H. Metal-tolerant moss *Scopelophila cataractae* accumulates copper in the cell wall pectin of the protonema / H. Konno, S. Nakashima, K. J. Katoh // Plant Physiology. – 2010. – Vol. 167. – P. 358-364.

16. Meychik N. Contribution of apoplast to short-term copper uptake by wheat and mung bean roots / N. Meychik, Y. Nikolaeva, M. Kushunina, I. Yermakov // Functional Plant Biology. – 2016. – Vol. 43. – № 5. – P. 403-412.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*Мейчик Наталия Робертовна, д-р биол. наук, профессор, в.н.с. кафедры физиологии растений биологического факультета

E-mail: meychik@mail.ru

Lomonosov Moscow State University

*Meychik Natalia R., PhD., DSci, Full Professor, leading researcher, Department of Plant Physiology, Faculty of Biology

E-mail: meychik@mail.ru

Никущин Олег Витальевич, аспирант кафедры физиологии растений биологического факультета

E-mail: nikushin.94@mail.ru

Nikushin Oleg V., postgraduate student, Department of Plant Physiology, Faculty of Biology

E-mail: nikushin.94@mail.ru

Николаева Юлия Игоревна, канд. биол. наук, с.н.с. кафедры физиологии растений биологического факультета

E-mail: yuliya_nikolaeva@mail.ru

Nikolaeva Yulia I., PhD., senior researcher, Department of Plant Physiology, Faculty of Biology

E-mail: yuliya_nikolaeva@mail.ru

Кушунина Мария Александровна, канд. биол. наук, с.н.с. кафедры физиологии растений биологического факультета

E-mail: mkushunina@gmail.com

Kushunina Maria A., PhD., senior researcher, Department of Plant Physiology, Faculty of Biology

E-mail: mkushunina@gmail.com

THE EFFECT OF Cu^{2+} ON ION-EXCHANGE PROPERTIES OF NARBON VETCH ROOT AND SHOOT CELL WALLS

N.R. Meychik, O.V. Nikushin, Yu.I. Nikolaeva, M.A. Kushunina

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology

Abstract. Plant cell walls (CWs) are a compartment whose physicochemical characteristics determine its participation in the processes of primary absorption of mineral elements. They are the first to come into contact with an external solution with an excessive concentration of a toxic metal, and therefore are an important barrier to its penetration into the protoplast due to the fact that CW is a natural cation exchanger. However, information on the effect of increased concentrations of Cu^{2+} in the environment on the ion-exchange properties of plant root and shoot CWs is extremely limited.

The purpose of this work was to evaluate the ion-exchange properties of CW isolated from the roots and shoots of vetch (*Vicia narbonensis* L.) plants and to determine the effect of 24 h Cu^{2+} treatment on these properties. In the experiments, we used 9(10)-day-old plants grown in a solution with a low content of mineral nutrients.

Isolation of the CW polymer matrix was carried out from the roots and aerial parts of plants according to the previously described method. To determine the quantitative and qualitative composition of ion exchange groups in the CW, a potentiometric titration method was used.

The ion exchange properties of CWs isolated from the shoots and roots of control vetch plants and the plants after 24 h incubation on 100 μM CuCl_2 solution were determined. It was established that the CWs of both control and experimental plants contain three types of cation exchange groups: carboxyl groups of polygalacturonic (PGA) and hydroxycinnamic (HCA) acids, and phenolic OH-groups. The pK_a values of functional groups of each type were determined and it was shown that the ion-exchange capacity of CW at physiological pH level is determined by the presence of two types of carboxyl groups (PGA and HCA). It was established that in the CWs of aerial parts of control plants the content of PGA and HCA carboxyl groups is 1.2 and 1.4 times higher, respectively, than in the root CWs. The content of phenolic OH-groups in the root CW is 1.5 times lower than in the shoot CW. In response to the Cu^{2+} treatment, the ion exchange capacity of the CWs of both roots and shoots remains practically unchanged, but the content of phenolic OH-groups in the roots increases by 38% and the mass fraction of the CW in the total mass of both shoot and root increases significantly (from 40 to 58%).

Keywords: *Vicia narbonensis*, heavy metals, cell wall, ion exchange properties, copper ions

REFERENCES

1. Kumar V. Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review / V. Kumar, S. Pandita, G.P. Singh Sidhu, A. Sharma, K. Khanna, P. Kaur, A.S. Bali, R. Setia // *Chemosphere*. – 2021. – Vol. 262, 127810.
2. Mansoor S. Heavy metal induced oxidative stress mitigation and ROS scavenging in plants / S. Mansoor, A. Ali, N. Kour, J. Bornhorst, K. AlHarbi, J. Rinklebe, D. Abd El Moneim, P. Ahmad, Y.S. Chung // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – № 16. – P. 3003.
3. Chen G. Physiological and molecular mechanisms of plant responses to copper stress / G. Chen, J. Li, H. Han, R. Du, X. Wang // *International Journal of Molecular Science*. – 2022. – Vol. 23, 12950.
4. Haynes R.J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplast. Their role in ion accumulation by plants // *Botanical Review*. – 1980. – Vol. 46. – P. 75-99.
5. Meychik N. The significance of ion-exchange properties of plant root cell walls for nutrient and water uptake by plants / N. Meychik, Y. Nikolaeva, M. Kushunina // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2021. – Vol. 166. – P. 140-147.
6. Meichik N. R. Vliyanie polimetallicheskogo zagryazneniya na ionoobmennye svoystva kletochnykh stenok kornei i pobegov yachmenya / N. R. Meichik, Yu. I. Nikolaeva, O. V. Nikushin, M. A. Kushunina // *Doklady Rossiiskoi akademii nauk. Nauki o zhizni*. – 2021. – T. 501. – № 1. – S. 547-550.
7. Meichik N. R. Ionoobmennye svoystva kletochnykh stenok u sortov nuta s razlichnoi chuvstvitel'nost'yu k zasoleniyu / N. R. Meichik, I. P. Ermakov, S. D. Khonarmand, Yu. I. Nikolaeva // *Fiziologiya rastenii*. – 2010. – T. 57. – № 5. – S. 665-675.
8. Meichik N. R. Rol' fiziko-khimicheskikh svoystv kletochnykh stenok kornei v pogloshchenii medi rasteniyami viki narbonskoi / N. R. Meichik, Yu. I. Nikolaeva, O. V. Nikushin, M. A. Kushunina // *Biofizika*. – 2021. – T. 66. – № 1. – S. 137-146.
9. Meichik N. R. Raschet konstanty ionizatsii funktsional'nykh grupp karboksil'nykh ionitov / N. R. Meichik, S. I. Stepanov, Yu. I. Nikolaeva // *Zhurnal fizicheskoi khimii*. – 2018. – T. 92. – № 2. – S. 251-256.
10. Lin C.-C. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots / C.-C. Lin, L.-M. Chen, Z.-H. Liu // *Plant Science*. – 2005. – Vol. 168. – P. 855-861.
11. Wang S.-H. Copper-induced oxidative stress and responses of the antioxidant system in roots of *Medicago sativa* / S.-H. Wang, H. Zhang, Q. Zhang, G.-M. Jin, S.-J. Jiang, D. Jiang, Q.-Y. He, Z.-P. Li // *Journal of Agronomy and Crop Science*. – 2011. – Vol. 197. – P. 418-429.
12. Colzi I. Copper tolerance strategies involving the root cell wall pectins in *Silene paradoxa* L. / I. Colzi, M. Arnetoli, A. Gallo, S. Doumett, M. Del Bubba, S. Pignattelli, R. Gabbrielli, C. Gonnelli // *Environmental and Experimental Botany*. – 2012. – Vol. 78. – P. 91-98.
13. Eticha D. Cell-wall pectin and its degree of methylation in the maize root-apex: significance for genotypic differences in aluminum resistance / D. Eticha, A. Stass, W. J. Horst // *Plant, Cell & Environment*. – 2005. – Vol. 28. – P. 1410-1420.
14. Parrotta L. Target or barrier? The cell wall of early- and later-diverging plants vs cadmium toxicity: differences in the response mechanisms / L. Parrotta, G. Guerriero, K. Sergeant, G. Cai, J.-F. Hausman // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – Vol. 6. – P. 1-16.

15. Konno H. Metal-tolerant moss *Scopelophila cataractae* accumulates copper in the cell wall pectin of the protonema / H. Konno, S. Nakashima, K. J. Kato // *Plant Physiology*. – 2010. – Vol. 167. – P. 358-364.

16. Meychik N. Contribution of apoplast to short-term copper uptake by wheat and mung bean roots / N. Meychik, Y. Nikolaeva, M. Kushunina, I. Yermakov // *Functional Plant Biology*. – 2016. – Vol. 43. – № 5. – P. 403-412.