

СИГНАЛЬНЫЕ И АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ, ИНДУЦИРУЕМЫЕ Ni^{2+} И КОМПЛЕКСАМИ Ni -ГИСТИДИН, В КЛЕТКАХ КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

**Мацкевич В.С., Шикер А.А., Лицкевич К.С., Рекиш А.Л.,
Смолич И.И., Демидчик В.В.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Никель является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов для растений. Токсическое влияние никеля сопровождается генерацией активных форм кислорода (АФК) и индукцией окислительного стресса. Считается, что синтез АФК и окислительное повреждение запускают каскад дальнейший повреждений клетки. Однако, механизм синтеза АФК под действием избыточных уровней никеля пока не ясен, так как Ni^{2+} не обладает редокс-активностью в биологических условиях и не катализирует формирование свободных радикалов, повреждающих органические молекулы клетки. Нами выдвинута гипотеза, согласно которой для активации АФК-генерирующих свойств никеля требуется формирование комплексов Ni^{2+} с природными хелаторами, такими как гистидин. Гистидин (Гис) обладает высоким сродством к никелю, и часто отмечается увеличение его уровня в организме при никелевом стрессе. Целью настоящего исследования являлось установить роль взаимодействия Ni^{2+} с Гис в индукции сигнальных реакций в корне высших растений в условиях никелевого стресса. В опытах с регистрацией прорастания модельных растений *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. на среде с никелем было показано, что высокие уровни Ni^{2+} ингибируют формирование и рост корневой системы. Дозозависимость данного эффекта имела S-образный вид с полумаксимальным ингибированием при 0,2-0,3 мМ Ni^{2+} и полным ингибированием при 3 мМ Ni^{2+} . Добавление Гис вместе с никелем (2:1) значительно снижало токсичность Ni^{2+} . В ростовых тестах с заменой среды Ni^{2+} ингибировал рост корней арабидопсиса, однако при более высоких концентрациях (начиная с 3 мМ). Растения *rhd2*, лишённые НАДФН-оксидазы, были менее чувствительны к никелю: торможение роста регистрировалось лишь при добавлении 10 мМ Ni^{2+} . Введение Гис снижало токсическое действие Ni^{2+} на рост корня растений дикого типа, но не имело эффекта на *rhd2*. Тесты с флуоресцентным зондом ди гидроэтидиум (ДГЭ) показали, что Ni^{2+} не вызывает генерации АФК в корне. Добавление никеля на фоне Гис активировало значительную продукцию АФК. В этом случае максимум флуоресценции ДГЭ отмечался при 30-минутном стрессировании Ni^{2+} -Гис₂. Зона роста растяжением была наиболее чувствительна к воздействию никеля. Добавление антиоксидантов (диметилсульфоксида) снижало уровень АФК под действием никеля. Тестирование уровня свободного Ca^{2+} в цитоплазме клеток корня показало, что Ni^{2+} не вызывает изменений $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$, однако на фоне Гис он индуцировал Ca^{2+} -сигналы. Таким образом, получено подтверждение того, что в присутствии Гис никель приобретает свойства индуктора сигнальных процессов, таких как генерация АФК и повышение уровня Ca^{2+} в цитоплазме. Вероятно, это позволяет растительной клетке распознать и приспособиться к повышенному содержанию никеля. С использованием комплекса молекулярных и физиологических подходов выявлены гены-мишени Ni^{2+} -Гис₂ в клетке, такие как редокс-чувствительный K^+ -канал GORK, глутатион-редуктаза GR1, Ca^{2+} -зависимая протеинкиназа СРК6 и др.. Также были проведены опыты с сельскохозяйственными видами, которые показали высокую чувствительность к никелю растений пшеницы и подсолнечника и низкую чувствительность к данному тяжелому металлу гороха (его минимальный рост наблюдался даже при 10 мМ Ni^{2+} в среде). Вероятно, это связано с большой активностью уреазы у бобовых.