

АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ Ni^{2+} И Ni -ГИСТИДИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ НА РОСТ И АРХИТЕКТУРУ КОРНЕЙ *HORDEUM VULGARE*

К. И. Арзамазкина, А. Д. Герман

v.mackievic@gmail.com;

Научный руководитель – В. С. Мацкевич, старший преподаватель

Одной из самых важных проблем экологии является загрязнение почв тяжелыми металлами. Среди них можно выделить никель, так как он поступает в большом количестве в окружающую среду из промышленных отходов и бытовых изделий. При воздействии никеля в растениях синтезируется чрезмерное количество активных форм кислорода (АФК), оказывающих повреждающее действие. В ответ на Ni -стресс растения выделяют аминокислоту гистидин. В данной работе было протестировано влияние Ni^{2+} и Ni -гистидиновых комплексов на рост и архитектуру корней *Hordeum vulgare*.

Ключевые слова: никель; гистидин; ячмень; рост; корень; проростки.

ВВЕДЕНИЕ

Никель является одним из основных микроэлементов высших растений и жизненно важным компонентом для их роста [1]. Никель входит в состав некоторых пептид-деформилаз, глиоксалаз и редуктаз. Поэтому он участвует в разных физиологических процессах: образовании метана, водородном обмене [2]. Кроме того, никель является кофактором фермента уреазы [3]. Несмотря на то, что Ni является жизненно важным микроэлементом высших растений, его чрезмерная концентрация оказывает токсическое действие на организм растения: никель вызывает замедление и снижение роста побегов и корней и, соответственно, снижает значение их общей биомассы [4]. Помимо этого, слишком высокое содержание Ni в растениях приводит к хлорозу и некрозу, а также негативно сказывается на процессах фотосинтеза и дыхания [5]. Было выяснено, что, в первую очередь, в ответ на повышенные уровни никеля в среде растения выделяют аминокислоту гистидин, которая способна частично нейтрализовать его воздействие [4]. Гистидин обладает способностью к перехвату пероксильных радикалов, предотвращению карбоксилирования белков и образования белковых сшивок [5]. Антиоксидантная активность гистидина опосредована хелатированием ионов металлов, поглощением активных форм кислорода и азота, а также путем секвестрации передового гликирования и прогрессирующего липоксидирования [6].

Цель данной работы – протестировать влияние Ni^{2+} и Ni - гистидиновых комплексов на рост и архитектуру корней высших растений на примере ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

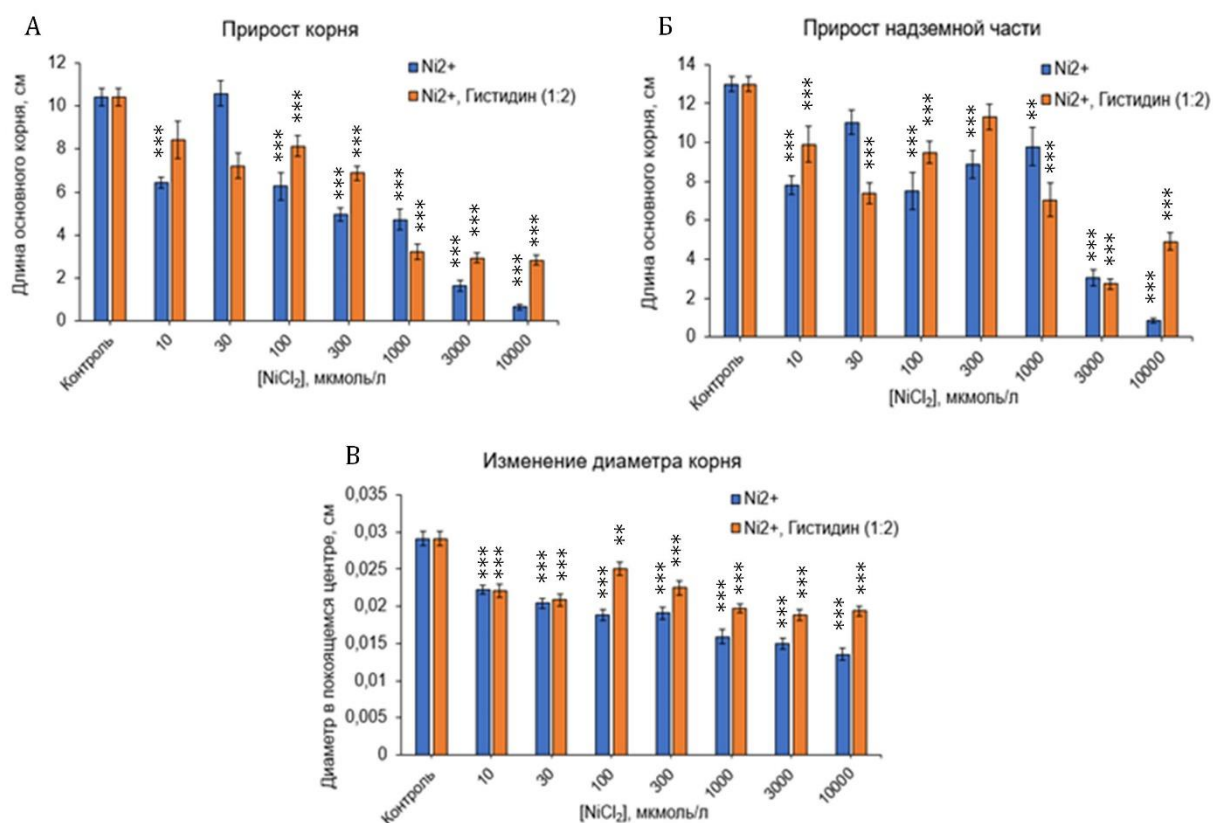
В качестве объекта исследования использовались растения ячменя (*Hordeum vulgare*). Проростки растения выращивались рулонным методом. Семена ячменя стерилизовались 10% раствором гипохлорита натрия (Белизна) на протяжении 10 мин, промывались под проточной водой и выкладывались на лист фильтровальной бумаги на расстоянии примерно 1 см от верхнего края, затем сверху размещался еще один лист, и все они вместе с семенами скручивались в рулоны, которые помещались в стаканы с питательной средой, содержащей 10% стандартный набор солей Мурасиге и Скуга. В данную среду вводились растворы Ni^{2+} ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и Ni-гистидин, pH доводился до 6,0. Затем стаканы с рулонами ставились в стерильную камеру с поддерживаемым освещением (16 ч свет, 8 ч темнота) и температурным режимом (22°C). На 7 сут регистрировалась длина основного корня, расчеты производились при помощи приложения *ImageJ*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Добавление в среду Ni^{2+} оказывало ингибирующий эффект на рост корней *Hordeum vulgare*, начиная с концентрации 0,01 мМ (рисунок 1, А). При добавлении никеля в концентрации 0,3 мМ оказывался полублетальный эффект. Максимальное ингибирующее действие наблюдалось при повышенных концентрациях Ni^{2+} (3 мМ и 10 мМ). В 10 мМ наблюдалось почти полное торможение ростовых процессов корня: на 93,6% по сравнению с контролем. Добавление гистидина оказывало протекторное действие, особенно при повышенных концентрациях никеля, равных 3 мМ и 10 мМ. При этих концентрациях ингибирующий эффект никеля снижался на 20-30%. В случае изменения длины проростков негативное влияние никеля проявлялось схожим образом, начиная с концентрации 0,01 мМ (рисунок, Б). Уменьшение длины побегов более чем на 50% происходило при концентрации Ni^{2+} 0,3 мМ, а максимальное негативное влияние оказывалось при 10 мМ (на 91,5%). При обработке надземной части ячменя Ni^{2+} вместе с гистидином ингибирующий эффект, оказываемый Ni^{2+} , был меньше.

Так как корни растений продемонстрировали большую чувствительность никелевому стрессу, были также проанализированы изменения архитектуры корня: диаметр корня в зоне покоящегося роста,

диаметр в зоне всасывания и длина атрихобластов. Проведенные эксперименты показали, что наиболее подверженным никелевому стрессу оказался диаметр корня в зоне покоящегося роста. Он уменьшался с ростом концентрации металла. Максимальное ингибирование утолщения корня в этой зоне наблюдалось при концентрации 10 мМ Ni^{2+} : ширина корня снизилась на 53,4% по сравнению с контролем. Добавление гистидина частично компенсировало негативное влияние никеля: на 20% (рисунок, В). Чуть менее чувствительным параметром в случае архитектуры корня оказалось снижение длины атрихобластов, а наименее чувствительным по отношению к добавлению никеля в среду оказалось изменение диаметра в зоне всасывания. При максимальной концентрации никеля (10 мМ) происходило уменьшение данных параметров на 40%.



Изменение длины корней ячменя (А); длины надземной части ячменя (Б); диаметра корня ячменя в зоне покоящегося центра (В) в ответ на Ni^{2+} и Ni^{2+} -гистидин ($X \pm Sx$).

Достоверность различий рассчитывалась по сравнению с контролем при помощи ANOVA теста: *** – $p < 0,001$; ** – $p \leq 0,01$

Также было протестировано накопление биомассы корней и надземной части при выращивании ячменя на среде с никелем и никель-гистидином. Ингибирующий эффект, оказываемый никелем на изменение биомассы, достоверно наблюдается при более высоких концентрациях

Ni²⁺, начиная с 0,3 мМ в случае сырой массы и сухой массы надземной части, и 0,03 мМ в случае сухой массы корня. Введение гистидина частично снижало эффект, оказываемый никелем.

Таким образом, было показано, что никель оказывает ингибирующее действие на рост корней и наземной части ячменя, при этом корни демонстрируют большую чувствительность к данному металлу. Добавление гистидина оказывает протекторное действие в условиях никелевого стресса. Вероятно, с одной стороны, гистидин способен хелатировать никель, тем самым уменьшая его доступность для растения, а, с другой стороны, никель совместно с гистидином могут формировать редокс-активные комплексы, способные индуцировать синтез активных форм кислорода, который может являться сигналом для запуска адаптивных реакций в клетках растений.

Библиографические ссылки

1. Co Silicon Alleviates Nickel-Induced Oxidative Stress by Regulating Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems in Mustard Plants / E. F. Abd Allah [et al.] // Journal of Plant Growth. 2019. Vol. 38, № 17. P. 1-14.
2. Ингибирование ростовых процессов и индукция запрограммированной клеточной гибели в корне *Helianthus annuus* L. под действием ионов никеля и никель-гистидиновых комплексов / В.С. Мацкевич. и др. // Экспериментальная биология и биотехнология 2020. Т. 1. С. 11-19.
3. Short-term nickel residual effect in field-grown soybeans: nickel-enriched soil acidity amendments promote plant growth and safe soil nickel levels. / B. W. Rodak [et al.] // Archives of Agronomy and Soil Science. 2021. P. 1-16.
4. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution / H. Rahman [et al.] // Plant Nutrition. 2005. № 28. P. 393-404.
5. Антиоксидантные свойства аминокислот и образование долгоживущих радикалов белка под действием рентгеновского излучения / И.Н. Штаркман // Автореферат диссертации кандидата биологических наук по специальности 03.00.02. – Пушкино, 2008. – 22 с.
6. Holeček, M. Histidine in Health and Disease: Metabolism, Physiological Importance, and Use as a Supplement / M. Holeček // Nutrients. 2020. Vol. 12, № 3. P. 848.