

10°C до 21°C (294–300 K). Таким образом, обработка митохондрий натрий-μ2-дитиосульфатотетранитрозилдиферрат тетрагидратом в дозе 10⁻⁴ М, по-видимому, приводила к значительному увеличению уровня пероксидного окисления липидов и текучести липидной фазы мембран.

Эффект никеля и никель-гистидиновых комплексов на ростовые процессы у высших растений

**Герман А. Д.^А, Арзамазкина К. И.^А, Губаревич К. И.^А, Гордых С. А.^А,
Мацкевич В. С.^{А*}**

*^А Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: mackievic@bsu.by*

Никель является пятым по распространенности элементом на Земле после железа, кислорода, кремния и магния и составляет 3% массы планеты [1]. Никель и его соединения естественным образом присутствуют в земной коре и в относительно больших количествах выбрасываются в атмосферу при извержении вулканов, лесных пожарах, образовании метеорной пыли и т.д. [1-3]. Кроме того, данный металл широко используется в промышленности при производстве нержавеющей стали, различных сплавов, аккумуляторов, элементов электротехники, медицинского и химического оборудования [2]. Поэтому в индустриально развитых регионах часто возникает проблема никелевого загрязнения.

Для растений никель является важным микроэлементом, в первую очередь он входит в состав фермента уреазы [3]. Тем не менее, потребность растений в нем не высока, для большинства видов концентрации Ni²⁺ свыше 10-50 мкМ вызывают токсические эффекты: тормозят ростовых процессов, подавляют фотосинтез, прорастание семян, транспорт сахара и индуцируют хлороз, некроз и увядание [4]. Ni²⁺ способен накапливаться в различных тканях растения, что дает возможность попаданию больших доз никеля по пищевым цепям в организмы животных и человека.

Первичный и наиболее общий ответ растений на воздействие стресс-факторов среды – ингибирование ростовых процессов, происходящих вследствие переключения с использования ресурсов (энергии и метаболических предшественников) для накопления биомассы на использование их для активации защитных механизмов [5]. При этом основной мишенью большинства абиотических стрессоров выступают клетки корня. В связи с этим, анализ роста корней является одним из удобных и информативных методов изучения влияния стресс-факторов на растительный организм, а

также определения стрессоустойчивости различных видов и сортов. Целью настоящей работы являлся анализ влияния никеля и комплексов никеля с гистидином на рост корней важнейших сельскохозяйственных культур: пшеницы, ячменя, подсолнечника и гороха.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовались растения *Triticum aestivum* L. сорт Элегия, *Hordeum vulgare* L. сорт Буслик, *Helianthus annuus* L. гибрид Ореон, *Pisum sativum* L. сорт Виктор. 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 ростовую 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. Общую жизнеспособность клеток корня оценивали при помощи Evans Blue [6]: после обработки стресс-растворами проростки выдерживались 30 мин в 0,025% растворе EB, затем 10 мин промывались в буфере (мМ): 0,1 KCl, 0,1 CaCl_2 , 1 Tris/ 2 Mes pH 6,0; накопление флуоресценцию EB регистрировали на микроскопе Nikon Eclipse TS100 (фильтр G-2A); изображения анализировались в приложении ImageJ. Анализ продукции гидроксильных радикалов осуществлялся методом спектрометрии электронно парамагнитного резонанса. В качестве спиновой ловушки добавляли ДМПО (5,5-диметил-1-пирролин-N-оксид) в концентрации 100 ммоль/л. Сигнал ДМПО-НО $\cdot$ регистрировался при помощи ЭПР-спектрометра SpinscanX и анализировался в программе eSpinoza (ADANI).

Ростовые тесты показали, что низкие концентрации Ni^{2+} (до 0,01 мМ) стимулировали рост основного корня пшеницы, однако при увеличении концентрации свыше 0,03 мМ Ni^{2+} наблюдалось ингибирование ростовых процессов. Полунгибирующий эффект отмечался при 0,3 мМ Ni^{2+} , концентрация 10 мМ Ni^{2+} была летальной. В присутствие гистидина токсический эффект Ni^{2+} снижался и даже при летальной концентрации никеля в 10 мМ наблюдалось прорастание семян. Рост корней ячменя ингибировался, начиная с концентрации 0,01 мМ Ni^{2+} (снижение роста на 30), при 10 мМ Ni^{2+} рост корней полностью подавлялся. Добавление гистидина, в соотношении 1 Ni^{2+} :2 гистидин, оказывало протекторное влияние, особенно заметное при 3 и 10 мМ Ni^{2+} (ингибирующий эффект снижался на 20-30%).

В случае подсолнечника при выращивании растений в среде с никелем не наблюдалась стимуляция роста низкими концентрациями Ni^{2+} . Начиная с 0,1 мМ Ni^{2+} отмечалось достоверное ингибирование роста основного корня. Полумаксимальный ингибирующий эффект регистрировался при 0,3 мМ Ni^{2+} , концентрация 10 мМ Ni^{2+} была летальной. Добавление гистидина также оказывало протекторное действие, особенно заметное на фоне сублетальных и летальных уровней никеля. Проростки гороха были более устойчивыми к обработке никелем. Концентрация 0,1 мМ стимулировала ростовые процессы на 20%, начиная с 0,3 мМ Ni^{2+} отмечалось снижение скорости роста основного корня. Полумаксимальный ингибирующий эффект регистрировался при 1 мМ Ni^{2+} , небольшой рост отмечался и на фоне 10 мМ Ni^{2+} . Вероятно, меньшая чувствительность гороха к никелю связана с большой активностью уреазы в бобовых и, следовательно, высокой потребностью растений в никеле, входящим в состав данного фермента. Введение гистидина в питательную среду имело меньший эффект по сравнению с другими видами, небольшое протекторное действие гистидина наблюдалось лишь при 3 и 10 мМ Ni^{2+} .

При помощи эпифлуоресцентной микроскопии и зонда Evans Blue было показано, что 15 ч обработка 1-10 мМ Ni^{2+} вызывает гибель клеток корня высших растений, при этом зона деления является более чувствительной по сравнению с зоной всасывания. В случае ячменя и пшеницы при 10 мМ Ni^{2+} уровень повреждения корня в зоне деления возрастал в 3,4, а в зоне всасывания – в 2,5 раза по сравнению с контролем. В случае подсолнечника – в 3 раза для обеих зон. В случае гороха жизнеспособность клеток снижалась в зоне деления в 3,1, а в зоне всасывания – в 2,3 раза. Для всех культур добавление гистидина оказывало протекторное действие.

При помощи ЭПР-спектрометрии было показано, что свободные ионы никеля не оказывали влияния на сигнал ДМПО-НО $\cdot$ в отличие от комплексов никеля с гистидином. При этом сигнал аддукта ДМПО-НО $\cdot$, индуцируемый Ni-гистидин с добавлением H_2O_2 , был как минимум в десять раз ниже, чем сигнал, генерируемый Cu^{2+} и H_2O_2 . Вероятно, генерация небольшого количества АФК играет важную роль для запуска адаптивных реакций.

Таким образом, было показано, что Ni^{2+} снижает жизнеспособность клеток корня и оказывает ингибиторное действие на ростовые процессы растений. Горох демонстрирует большую устойчивость к никелевому стрессу, возможно, из-за высокой важности и обильности Ni-содержащего фермента уреазы у бобовых. Добавление гистидина оказывает протекторное действие на все протестированные морфо-физиологические пара-

метры в условиях никелевого стресса, что, вероятно, обусловлено его способностью хелатировать Ni^{2+} , а также редокс-активностью образующихся комплексов, которые могут индуцировать синтез АФК и запускать адаптивные реакции в клетках растений.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект Б24-060) и ГПНИ (№ ГР 20241163)

Библиографические ссылки

1. Мацкевич, В. С. Механизм трансмембранного и дальнего транспорта никеля в высших растениях / В. С. Мацкевич, В. В. Демидчик // Экспериментальная биология и биотехнология. – 2023. – №. 2. – С. 4–29.

2. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения / И.В. Серегин, А.Д. Кожевникова // Физиология растений. – 2006. – Т 53. – С. 285–308.

3. Yaadav N. An account of nickel requirement, toxicity and oxidative stress in plants / N. Yaadav, S. Sharma // Biological forum – an international journal. – 2016. – Vol. 1, № 8. – P. 414–419.

4. Occurrence, physiological responses and toxicity of nickel in plants / T.V.M. Sreekanth [et al.] // Int. J. Environ. Sci. Technol. – 2013. – Vol. 10. – P. 1129–1140.

5. Mechanisms of salinity tolerance / R. Munns, M. Tester // Annu. Rev. Plant Biol. – 2008. – Vol. 59. – P. 651–681.

6. Ингибирование ростовых процессов и индукция запрограммированной клеточной гибели в корне *Helianthus annuus* L. под действием ионов никеля и никель-гистиридиновых комплексов / В.С. Мацкевич и др. // Экспериментальная биология и биотехнология – 2020. – Т. 1. – С. 11-19.

Мелатонин регулирует окислительный и антиоксидантный статус клеточных культур растений *in vitro*

Головацкая И. Ф.^{А*}, Кадырбаев М. К.^А, Бойко Е. В.^А, Лаптев Н. И.^А

^А *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия. *E-mail: golovatskaya.irina@mail.ru*

Мелатонин (Мел) играет важную роль в регуляции роста и развития растений. Он контролирует органогенез корней и побегов и формирование растительных тканей, координирует внутренние ритмы растений с фото-периодами. Мел регулирует прорастание семян, цветение, старение и стрессовые реакции растений в ответ на биотические и абиотические факторы. Важной функцией этого индоламина является регуляция окислительного статуса через изменения уровня вторичных метаболитов. Одной из важных и многочисленных групп фенольных соединений (ФС) служит группа флавоноидов (Фл).