

І.І. ГОРЮНОВА, А.І. ЄМЕЦЬ, Я.Б. БЛЮМ

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України  
вул. Осиповського, 2а, м. Київ, 04123, Україна  
innagoriunova@ukr.net

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ НІКЕЛЮ ТА КАДМІЮ НА ОРГАНІЗАЦІЮ МІКРОТРУБОЧОК У КЛІТИНАХ КОРЕНІВ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Горюнова І.І., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Порівняльний аналіз впливу нікелю та кадмію на організацію мікротрубочок у клітинах коренів *Arabidopsis thaliana*. — 2015. — Укр. ботан. журн. — 72(6): 603—609.

За допомогою лазерної сканувальної мікроскопії досліджено ушкоджувальний вплив найбільш токсичних металів-полотантів — нікелю ( $\text{Ni}^{2+}$ ) та кадмію ( $\text{Cd}^{2+}$ ) — на прижиттєву організацію мікротрубочок різних типів клітин кореня *Arabidopsis thaliana* (L.) Neuph.. Для прижиттєвої візуалізації мікротрубочок використано лінію арабідопсису, здатну експресувати химерний ген *gfp-map4*. Уперше продемонстровано, що  $\text{Ni}^{2+}$  і  $\text{Cd}^{2+}$  порушують організацію та орієнтацію мікротрубочок у клітинах. Виявлено, що найчутливішими до дії як кадмію, так і нікелю, є мікротрубочки клітин зони поділу та перехідної зони коренів *A. thaliana*. Сильнішим токсичним ефектом володіє кадмій, який спричиняє зміни організації мікротрубочок також у клітинах меристеми, кортексу зони розтягу та зони диференціації.

К л ю ч о в і с л о в а: клітини кореня, цитоскелет, мікротрубочки, важкі метали, нікель, кадмій

### Вступ

Цитоскелет — найважливіший компонент рослинної клітини, що складається із взаємопов'язаних частин — мікротрубочок та актинових філаментів (мікрофіламентів). Мікротрубочки — це постійні високодинамічні складові цитоскелета рослинної клітини, що забезпечують низку життєво важливих процесів, таких як поділ і ріст, позиціонування органел, підтримування постійної форми та полярності клітин, мікрокомпарменталізація та внутрішньоклітинний транспорт (Ehrhard, Shaw, 2006). Організація мікротрубочок дуже чутлива до дії біотичних й абіотичних чинників. Ураження клітин патогенними або симбіотичними бактеріями, грибами та вірусами зумовлює стресову і/або адаптивну реорганізацію цитоскелета (Takemoto, Hardham, 2004). Низькі та високі температури, сила тяжіння, осмотичний стрес (Nick, 2013) і низка інших абіотичних факторів також впливають на динаміку мікротрубочок. Окрім того, на організації різних типів мікротрубочок позначаються такі внутрішньоклітинні сигнали, як фітогормони (Blume et al., 2012) та сигнальні молекули, наприклад, оксид азоту (NO) (Yemets et al., 2011). Процеси полімеризації і/або деполімеризації мікротрубочок порушуються і внаслідок впливу такого абіотичного чинника, як важкі метали. Досліджувані нами  $\text{Ni}^{2+}$  і  $\text{Cd}^{2+}$ , за найпоширенішою хімічною класифікацією, підпадають під загальноприйняте визначення

«важкі метали», до яких належать елементи з металевими властивостями й атомною масою понад 40–50 Да та густиною  $4 \pm 1 \text{ г/см}^3$  (Duffus, 2002). Разом з тим  $\text{Ni}^{2+}$ , як ультрамікроелемент, забезпечує у рослин біологічну активність гліюксалази, редуктази й уреази, супероксиддисмутази та гідрогенази, бере участь у метаболізмі водню, метану та в інших метаболічних процессах (Chen et al., 2009).

$\text{Ni}^{2+}$  і  $\text{Cd}^{2+}$ , подібно до інших важких металів, впливають на ріст і морфогенез рослин, тому вивчення їхньої дії на мікротрубочки, які саме і забезпечують ці процеси, є дуже актуальним. Окрім анеугенного ефекту, описаного в літературі та спричиненого антимікротрубочковим впливом  $\text{Ni}^{2+}$  і  $\text{Cd}^{2+}$  на веретено поділу та інші мітотичні структури, існують дані про безпосередню дію цих важких металів на мікротрубочки інтерфазних і мітотичних клітин. Раніше було показано, що активна деполімеризація в клітинах меристеми у *Allium cepa* L. відбувається під впливом  $\text{CdCl}_2$ , що може пояснюватися ініціацією іонами  $\text{Cd}^{2+}$  значної реорганізації мікротрубочок на незаякорених плюскінцях, і в разі обробки  $\text{NiSO}_4$  спостерігається стабілізація кортикальних мікротрубочок (Dovgalyuk et al., 2003). У культурі одноклітинних водоростей *Spirogyra decimina* (Müll.) Kütz.  $\text{CdCl}_2$  і  $\text{NiCl}_2$  зумовлюють необоротну дезорганізацію кортикальних мікротрубочок в інтерфазних клітинах (Pribyl et al., 2005). Однак отриманих даних ще недостатньо для розуміння механізмів впливу  $\text{Ni}^{2+}$  і  $\text{Cd}^{2+}$  на рослинні клітини.

Раніше ми дослідили дію нікелю та кадмію на мікрофіламенти різних типів клітин коренів як одну з потенційних мішеней цих металів. Продемонстровано, що розлади в нативній організації мікрофіламентів є однією з причин інгібування росту та порушення нормальної морфології головних коренів *Arabidopsis thaliana* (GFP-FABD2) під впливом CdSO<sub>4</sub> (Horiunova et al., 2014) і NiSO<sub>4</sub> (Horiunova et al., 2015). Зокрема, показано, що після 6 год обробки цими металами морфологія коренів залишалася інтактною. Лише в поодиноких випадках спостерігали збільшення довжини та кількості кореневих волосків, а також свелінг (розбухання) трихобластів й атрихобластів зони диференціації, а в разі обробки Cd<sup>2+</sup> — часткове відмирання клітин меристеми (Horiunova et al., 2014). Сильніші морфологічні порушення фіксували після 24, 48 і 72 годин обробки нікелем і кадмієм. Зокрема, в результаті впливу Ni<sup>2+</sup> і Cd<sup>2+</sup> спостерігалася потемніння клітин зони поділу, перехідної зони та зони елонгації, декороване нами за допомогою пропідіуміодиту — маркера мертвих клітин. Водночас обробка зазначеними металами призводила до розбухання епідермальних клітин зони поділу та перехідної зони, трихобластів й атрихобластів зони диференціації (Horiunova et al., 2014, 2015). Причиною таких змін, як ми продемонстрували, є безпосередній вплив Ni<sup>2+</sup> і Cd<sup>2+</sup> на компоненти цитоскелета, зокрема на актинові філаменти. У зв'язку з цим вважаємо за доцільне вивчити дію вказаних важких металів на інші складові цитоскелета — мікротрубочки клітин коренів, які є вельми чутливими до інтоксикації ґрунтовими полютантами.

### Об'єкти та методи дослідження

Для досліджень ми використовували корені чотириденних проростків лінії *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (екотип Landsbergerecta (Ler.)). Вони експресують химерний ген *gfp-map4*, котрий дає змогу прижиттєво вивчати динаміку й організацію мікротрубочок за допомогою візуалізації сигналу зеленого флуоресцентного білка (GFP), злитого з білком MAP-4, який асоційований із мікротрубочками. Корені обрані нами за об'єкт досліджень, оскільки вони є універсальною моделлю завдяки наявності в структурі різних типів клітин, що перебувають на різних етапах розвитку і, відповідно, мають практично всі мікротрубочкові побудови, характерні для рослинних об'єктів.

Приготування живильних середовищ, пророщування насіння, обробку чотириденних проростків концентраціями 5–20 мкМ NiSO<sub>4</sub> і CdSO<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, USA), а також дослідження організації мікротрубочок у клітинах зон поділу, перехідної зони, зон елонгації та диференціації *in vivo* з використанням лазерного сканувального конфокального мікроскопа LSM 5 PASCAL (CarlZeiss, Німеччина) проводили за раніше описаною нами методикою (Horiunova et al., 2014). За допомогою програмного забезпечення версії 4SP2 LSM 510 META отримували тривимірні зображення організації мікротрубочок на основі серії оптичних зрізів (Z-стеків) з інтервалом 0,2–0,7 мкм. Дослідження повторювали 3–5 разів, вивчали не менше десяти проростків для кожної із зазначених концентрацій.

### Результати досліджень та їх обговорення

Ми з'ясували, що в епідермальних клітинах кореневого апекса (стрілка на рис. 1, *a*) та перехідної зони (дистальної зони розтягу) (стрілка на рис. 2, *a*) необроблених (контрольних) коренів кортикальні мікротрубочки представлені близькорозміщеними одна до одної паралельними рядами.

На стадії інтерфази в клітинах меристеми помітні ендоплазматичні мікротрубочки, які радіально відходять від ядра (стрілка на рис. 1, *e*). В епідермальних клітинах і клітинах кортексу зони розтягу кортикальні мікротрубочки орієнтовані поперечно і навскісно щодо основної осі кореня (стрілки на рис. 2 *a*, *e*). У клітинах зони диференціації мікротрубочки набувають навскісної, а у віддаленіших від кореневого апекса клітинах — поздовжньої орієнтації. В атрихобластах кортикальні мікротрубочки орієнтуються навскісно. В трихобластах, які розвиваються, кортикальні мікротрубочки орієнтовані неупорядковано, а в зрілих корневих волосках — поздовжньо.

Нами встановлено, що зміни типової організації мікротрубочок спостерігаються вже в разі обробки 5 мкМ Ni<sup>2+</sup>. Так, обробка 5 і 10 мкМ протягом 1 год сформувала реорієнтовані мікротрубочки в епідермальних клітинах кореневого апекса (стрілки на рис. 1, *b*, *c*). Унаслідок обробки нікелем концентрацією 20 мкМ ми фіксували мікротрубочки з неупорядкованою орієнтацією (стрілки на рис. 1, *d*). Обробка 5, 10 і 20 мкМ Ni<sup>2+</sup> спричинила незначне порушення нативної організації мікротрубочок меристематичних клітин (стрілки на рис. 1, *f–h*). В епідермальних клітинах перехідної зони та зони

## Nickel

Control      5  $\mu\text{M}$       10  $\mu\text{M}$       20  $\mu\text{M}$

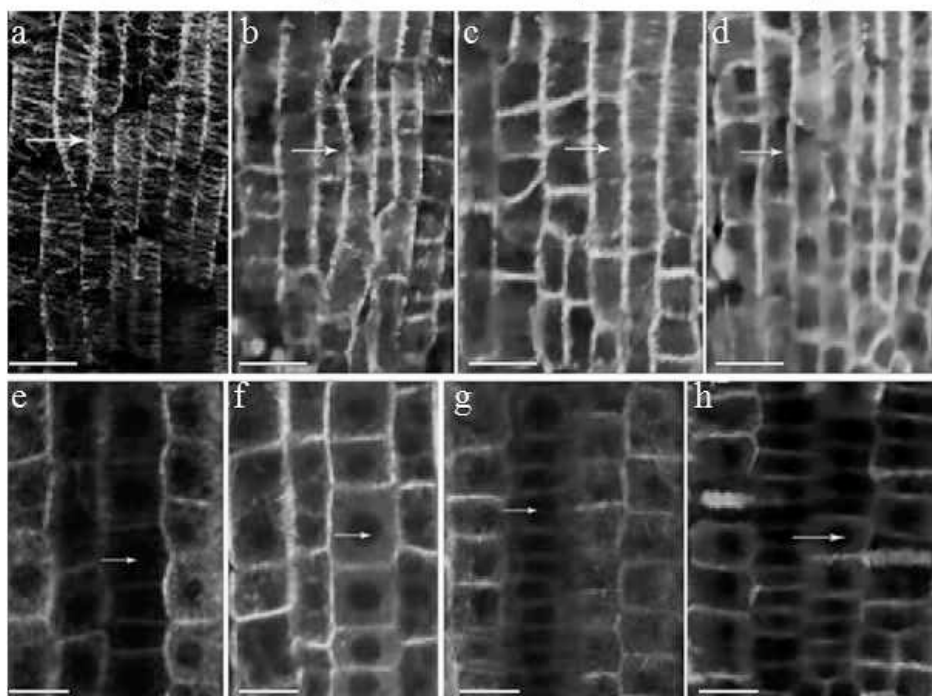


Рис. 1. Організація мікротрубочок в епідермальних клітинах кореневого апекса (b–d) і клітинах апікальної меристеми (f–h) головних коренів *Arabidopsis thaliana* (GFP-MAP4) після обробки проростків  $\text{Ni}^{2+}$  протягом 1 год: a, e – контроль; b, f – 5 мкМ; c, g – 10 мкМ; d, h – 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм

Fig. 1. Organization of microtubules in epidermal cell of root apex (b–d) and apical meristem (f–h) of *Arabidopsis thaliana* (GFP-MAP4) primary roots after seedling treatment by  $\text{Ni}^{2+}$  during 1 h: a, e – control; b, f – 5  $\mu\text{M}$ ; c, g – 10  $\mu\text{M}$ ; d, h – 20  $\mu\text{M}$ . Bars: 20  $\mu\text{m}$

## Nickel

Control      5  $\mu\text{M}$       10  $\mu\text{M}$       20  $\mu\text{M}$

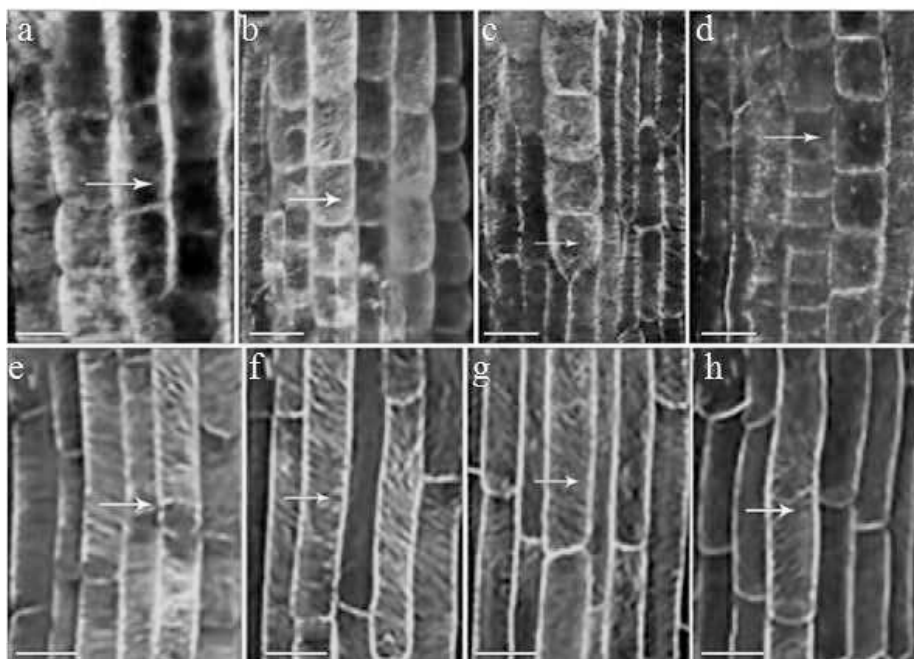


Рис. 2. Організація мікротрубочок в епідермальних клітинах перехідної зони (b–d) і зони розтягу (f–h) головних коренів *Arabidopsis thaliana* (GFP-MAP4) після обробки проростків  $\text{Ni}^{2+}$  протягом 1 год: a, e – контроль; b, f – 5 мкМ; c, g – 10 мкМ; d, h – 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм

Fig. 2. Organization of microtubules in epidermal cell of transitions zone (b–d) and elongation zone (f–h) of *Arabidopsis thaliana* (GFP-MAP4) primary roots after seedling treatment by  $\text{Ni}^{2+}$  during 1 h: a, e – control; b, f – 5  $\mu\text{M}$ ; c, g – 10  $\mu\text{M}$ ; d, h – 20  $\mu\text{M}$ . Bars: 20  $\mu\text{m}$

елонгації, починаючи з обробки концентрацією 5 мкМ, спостерігалася їхня рандомізація (стрілки на рис. 2, *b, f*), яка посилювалася зі збільшенням концентрації до 10 (стрілки на рис. 2, *c, g*) і 20 мкМ (стрілки на рис. 2, *d, h*). При цьому руйнування мікротрубочок ми не виявили. Мережа мікротрубочок у клітинах кортексу зони розтягу була подібною до контролю, поперечною і навскісною, внаслідок впливу всіх досліджуваних концентрацій. Тоді як у трихобластах, атрихобластах епідерми та кореневих волосках мікротрубочки були незначною мірою дезорієнтовані.

Сильніший вплив на організацію мікротрубочок мав  $Cd^{2+}$ . Так, у концентрації 5 мкМ він зумовив різко виражену неупорядкованість мікротрубочок в епідермальних клітинах кореневого апекса та меристематичних клітинах (стрілки на рис. 3, *b, f*). Тоді як в епідермальних клітинах перехідної зони (стрілка на рис. 4, *b*) та зони розтягу (рис. 4, *f*), крім дезорганізації, спостерігалася також їхня часткова (перехідна зона) (рис. 2, *b*) або повна деполімеризація (зона розтягу) (стрілка на рис. 2, *f*).

Клітини кортексу зони розтягу, а також трихобласти, атрихобласти і кореневі волоски виявилися менш чутливими до вказаної концентрації, оскільки в них сформувалися мікротрубочки з частково порушеною нативною орієнтацією. Ще різкішим виявився вплив кадмію концентрацією 10–20 мкМ. В епідермальних клітинах зони меристеми (стрілки на рис. 3, *c, d*), перехідної зони (рис. 4, *c, d*) та зони розтягу (рис. 2, *d, h*), а також у меристематичних клітинах (рис. 3, *d, h*) відбувалося сильне руйнування мікротрубочок, а в клітинах кортексу зони розтягу сформувалися хаотично орієнтовані мікротрубочки. У трихобластах й атрихобластах орієнтація була змінена з навскісної на поперечну, з їх частковою деполімеризацією, яка також фіксувалася і в кореневих волосках.

Сильніший токсичний ефект проявив кадмій. Він спостерігався більшою мірою в епідермальних клітинах зони меристеми, перехідної зони та зони розтягу, а також у меристематичних клітинах, що може впливати на ріст і морфогенез коренів рослин. Менше підпадали під дію  $Cd^{2+}$  клітини кортексу зони розтягу, трихобласти, атрихобласти та кореневі волоски зони елонгації.

Водночас мішенню для впливу всіх зазначених концентрацій нікелю більшою мірою стали мікротрубочки епідермальних клітин зон поділу та розтягу, менше це позначалося на зоні елонгації та клі-

тинах зони диференціації. Причому в меристематичних клітинах і клітинах кортексу зони елонгації сформувалися здебільшого типові за структурою мікротрубочки.

Таким чином, нікель і кадмій виявили подібний вплив на мікротрубочки епідермальних клітин зон поділу та розтягу, які першими безпосередньо контактують з іонами цих металів. Підкреслимо, що в разі обробки нікелем мікротрубочок клітин меристеми та кортексу зони розтягу вони практично не руйнувалися, на відміну від обробки цих типів клітин кадмієм.

Наявність швидкої відповіді мікротрубочок на індукований зазначеними важкими металами стрес дає підстави припускати, що нікель і кадмій починають діяти на компоненти цитоскелета ще до їхнього проникнення в цитоплазму. Існують дані про механізми взаємодії: клітинна стінка — плазмалема — мікротрубочки. Отже, мікротрубочки здатні реагувати на зовнішні сигнали за допомогою білків-рецепторів, розмішених у плазмалемі та пов'язаних із плюс-кінцями мікротрубочок, що пояснює наявність порушень нативної організації мікротрубочок після нетривалої обробки важкими металами (Miller et al., 1996). Можливо, накопичення металів на клітинній стінці, а потім — на плазмалемі супроводжується зміною організації мікротрубочок. Це ініціює, через взаємозв'язок мікротрубочки—мікрофіламенти, порушення орієнтації мікрофіламентів, що ми показали раніше (Hogiunova et al., 2014, 2015).

Після проникнення важких металів у клітини запускаються складні механізми їхньої детоксикації, такі як накопичення в симпласті, зв'язування в клітинній стінці та/або ж інгібування ендоцитозу. Якщо концентрація важких металів надто висока, запускаються механізми синтезу метал-хелатинів, а також накопичення їх у вакуолях. Водночас відбувається каскад реакцій оксидативного стресу, обумовлений посиленням синтезом стресових білків, сигнальних молекул і гормонів (Duffus, 2002).

Причому, незалежно від успішності запуску захисних механізмів у клітинах у відповідь на стрес, індукований важкими металами, в цей процес також залучається цитоскелет. Існують кілька механізмів взаємодії важких металів із цитоскелетом. Перший стосується їхнього безпосереднього впливу на процеси полімеризації компонентів цитоскелета — внаслідок зв'язування іонів важких металів з білками цитоскелета. Одним із спільних для

### Cadmium

Control      5  $\mu\text{M}$       10  $\mu\text{M}$       20  $\mu\text{M}$

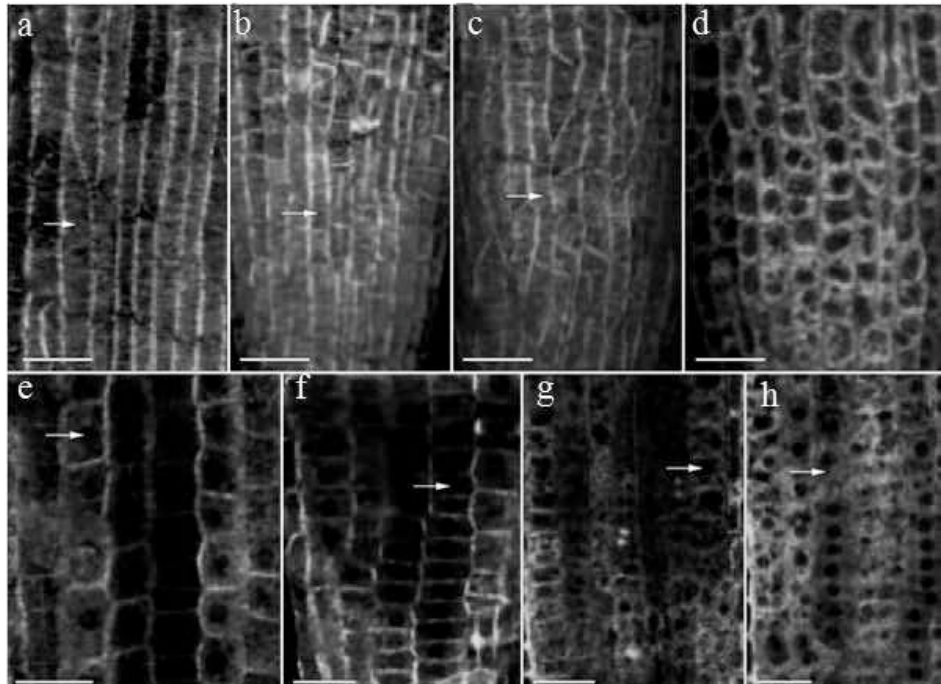


Рис. 3. Організація мікротрубочок в епідермальних клітинах кореневого апекса (*b–d*) і клітинах апікальної меристеми (*f–h*) головних коренів *Arabidopsis thaliana* (GFP-МАР4) після обробки проростків  $\text{Cd}^{2+}$  протягом 1 год: *a, e* — контроль; *b, f* — 5 мкМ; *c, g* — 10 мкМ; *d, h* — 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм

Fig. 3. Organization of microtubules in epidermal cells of root apex (*b–d*) and meristem (*f–h*) of *Arabidopsis thaliana* (GFP-МАР4) primary roots after seedling treatment by  $\text{Cd}^{2+}$  during 1 h: *a, e* — control; *b, f* — 5  $\mu\text{M}$ ; *c, g* — 10  $\mu\text{M}$ ; *d, h* — 20  $\mu\text{M}$ . Bars: 20  $\mu\text{m}$

### Cadmium

Control      5  $\mu\text{M}$       10  $\mu\text{M}$       20  $\mu\text{M}$

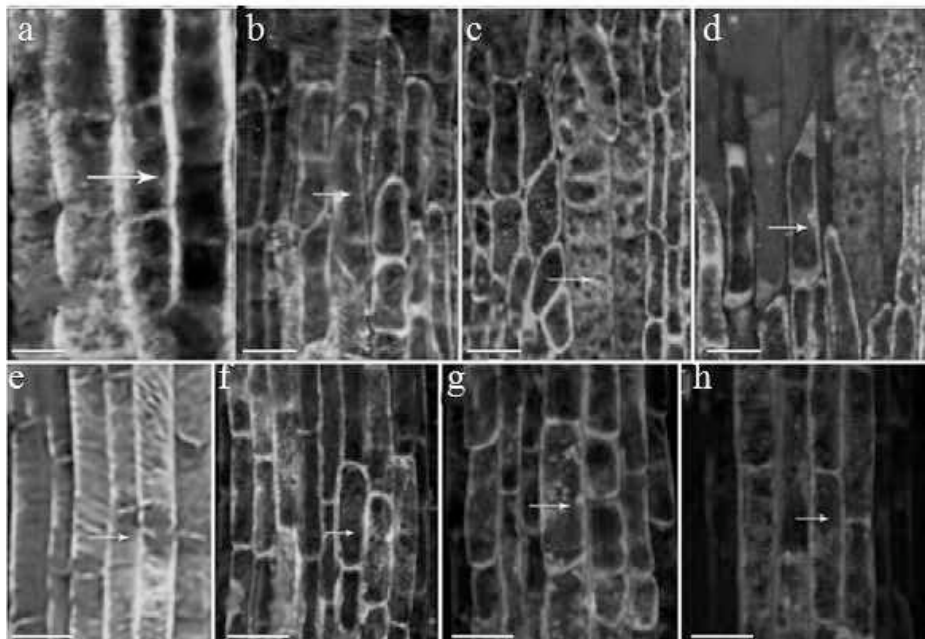


Рис. 4. Організація мікротрубочок в епідермальних клітинах перехідної зони (*b–d*) і зони розтягу (*f–h*) головних коренів *Arabidopsis thaliana* (GFP-МАР4) після обробки проростків  $\text{Cd}^{2+}$  протягом 1 год: *a, e* — контроль; *b, f* — 5 мкМ; *c, g* — 10 мкМ; *d, h* — 20 мкМ. Масштаб: 20 мкм

Fig. 4. Organization of microtubules in epidermal cell transitions zone (*b–d*) and elongation zone (*f–h*) of *Arabidopsis thaliana* (GFP-МАР4) primary roots after seedling treatment by  $\text{Cd}^{2+}$  during 1 h: *a, e* — control; *b, f* — 5  $\mu\text{M}$ ; *c, g* — 10  $\mu\text{M}$ ; *d, h* — 20  $\mu\text{M}$ . Bars: 20  $\mu\text{m}$

всіх важких металів механізмів впливу є здатність зв'язувати вільні SH-групи (Miller et al., 1996). Відомо, що CdCl<sub>2</sub> перешкоджає полімеризації мікротрубочок завдяки приєднанню до вільних SH-груп, що заважає їхній нормальній полімеризації (Lilium et al., 2000). Ще одним механізмом є конкурування двовалентних важких металів з іонами Ca<sup>2+</sup> у цитоплазмі клітин.

Оскільки Cd<sup>2+</sup> і Ca<sup>2+</sup> володіють подібними іонними радіусами (0,099 і 0,097 нм відповідно), відразу після потрапляння Cd<sup>2+</sup> у цитоплазму відбувається його зв'язування з певними сайтами в апопласті коренів, що визначає концентрацію вільного цитоплазматичного Ca<sup>2+</sup> й активність кальмодуліну, який бере участь у полімеризації мікротрубочок (Buljan et al., 2001). Разом з тим є дані про специфічні для нікелю механізми впливу. Так, показано, що стабілізація мікротрубочок обумовлена здатністю Ni<sup>2+</sup> заміщувати в молекулі ГТФ кофакторний іон Mg<sup>2+</sup> з огляду на близькі значення їхніх радіусів і неможливість комплексу Ni-тубулін-ГТФ гідролізувати, а також завдяки можливій взаємодії Ni<sup>2+</sup> з білками, асоційованими з мікротрубочками (Li et al., 1996).

## Висновки

Таким чином, нами вперше продемонстровано вплив кадмію та нікелю на організацію мікротрубочок у клітинах коренів *Arabidopsis thaliana*. Найчутливішими до дії Ni<sup>2+</sup> виявилися мікротрубочки в клітинах зони меристеми та перехідної зони, меншою мірою — в клітинах меристеми, кортексу зони розтягу та зони диференціації. Водночас драматичні зміни, спричинені Cd<sup>2+</sup>, стосувалися мікротрубочок практично всіх типів клітин коренів *A. thaliana*. Подальші поглиблені дослідження тонких механізмів фітотоксичного впливу Cd<sup>2+</sup> і Ni<sup>2+</sup> на всі компоненти цитоскелета рослинних клітин уможливають розробку нових ефективних стратегій захисту рослин від ушкоджувального впливу металів-полотантів ґрунтів.

*Дослідження виконані в рамках тематики ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» «Вивчення молекулярно-генетичних і клітинних механізмів стійкості рослин до абіотичних і біотичних факторів для поліпшення їх адаптивних властивостей до несприятливих умов навколишнього середовища» (2012–2016 рр.).*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Blume Ya.B., Krasnylenko Ya.A., Yemets A.I. *Russ J. Plant Physiol.*, 2012, **59**(4), pp. 557–573. [Блум Я.Б., Красиленко Ю.А., Емец А.И. Влияние фитогормонов на цитоскелет растительной клетки // *Физиология растений*. — 2012. — **59**(4). — С. 557–573].
- Buljan V., Yeung S., Rushdi S., Delikatny E.J., Hambly B. Mercury and cadmium effects on microtubule polymerisation and depolymerisation, *Biophys. J.*, 2001, **80**, pp. 99–111.
- Chen C., Huang D., Liu J. Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects, *Clean*, 2009, **37**(4–5), pp. 304–313.
- Dovgalyuk A., Kalynyak T., Blume Ya.B. Heavy metals have a different action from aluminium in disrupting microtubules in *Allium cepa* L. meristematic cells, *Cell Biol. Int.*, 2003, **27**, pp. 193–195.
- Duffus J.H. «Heavy metals» — a meaningless term?, *Pure Appl. Chem.*, 2002, **74**(5), pp. 793–807.
- Ehrhardt D.W., Shaw S.L. Microtubule dynamics and organization in the plant cortical array, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2006, **57**, pp. 859–875.
- Horiunova I.I., Krasnylenko Yu.A., Zaslavsky V.A., Yemets A.I., *Dopov. Nac. akad. nauk Ukraine*, 2014, **9**, pp. 127–133. [Горюнова И.И., Красиленко Ю.А., Заславский В.А., Емец А.И. Влияние кадмия на организацию актиновых филаментов в клетках корней *Arabidopsis thaliana* // *Доп. НАН України*. — 2014. — **9**. — С. 127–133].
- Li W., Zhao Y., Chou I.-N. Nickel (Ni<sup>2+</sup>) enhancement of  $\alpha$ -tubulin acetylation in cultured 3T3 cells, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1996, **140**, pp. 461–470.
- Lilium K., Wagner G., Pacz A., Cascante M., Kovacs J., Ovadi J. Organization-dependent effects of toxic bivalent ions. Microtubule assembly and glycolysis, *Eur. J. Biochem.*, 2000, **267**, pp. 473–479.
- Nick P. Microtubules, signalling and abiotic stress, *Plant J.*, 2013, **75**, pp. 309–323.
- Pribyl P., Cepák V., Zachlede V. Cytoskeletal alterations in interphase cells of the green alga *Spirogyra decimina* in response to heavy metals exposure: II. The effect of aluminium, nickel and copper, *Toxicol. in Vitro*, 2008, **22**, pp. 1160–1168.
- Takemoto D., Hardham A.R. The cytoskeleton as a regulator and target of biotic interactions in plants, *Plant Physiology*, 2004, **136**, pp. 3864–3876.
- Wallin M., Larrson H., Edstrom A. Tubulin sulphhydryl groups and polymerization *in vitro*. Effects of di- and trivalent cations, *Exp. Cell Res.*, 1977, **107**, pp. 219–225.
- Yemets A.I., Krasnylenko Yu.A., Lytvyn D.I., Sheremet Ya.A., Blume Ya.B. Nitric oxide signalling via cytoskeleton in plants, *Plant Sci.*, 2011, **181**, pp. 545–554.

Рекомендує до друку  
Є.Л. Кордюм

Надійшла 06.10.2015 р.

Горюнова И.И., Емец А.И., Блюм Я.Б. Сравнительный анализ влияния никеля и кадмия на организацию микротрубочек в клетках корней *Arabidopsis thaliana*. — Укр. ботан. журнал. — 2015. — 72(6): 603—609.

ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики»  
НАН Украины  
ул. Осиповского, 2а, г. Киев, 04123, Украина

С помощью лазерной сканирующей микроскопии изучено влияние наиболее токсических тяжелых металлов — никеля ( $Ni^{2+}$ ) и кадмия ( $Cd^{2+}$ ) — на прижизненную организацию микротрубочек различных типов клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Для визуализации микротрубочек *in vivo* была использована линия арабидопсиса, экспрессирующая химерный ген *gfp-map4*. Впервые показано, что  $Ni^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  нарушают организацию и ориентацию микротрубочек в клетках, приводя к морфологическим изменениям корня, как основного органа растений, первым подвергающегося интоксикации почвенными поллютантами. Обнаружено, что наиболее чувствительными к действию как кадмия, так и никеля, являются микротрубочки эпидермальных клеток зоны деления и переходной зоны корня *A. thaliana*. Более сильным токсическим эффектом обладает кадмий, который вызывает изменения организации микротрубочек также в клетках меристемы, кортекса зоны элонгации и зоны дифференциации.

Ключевые слова: клетки корня, цитоскелет, микротрубочки, тяжёлые металлы, никель, кадмий.

Horiunova I.I., Yemets A.I., Blume Y.B. Comparative analysis of the effect of nickel and cadmium on the organization of microtubules in the cells of the *Arabidopsis thaliana* primary roots. — Ukr. Bot. J. — 2015. — 72(6): 603—609.

Institute of Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine  
2a, Osipivskogo Str., Kyiv, 04123, Ukraine

The influence of the most toxic heavy metals, nickel ( $Ni^{2+}$ ) and cadmium ( $Cd^{2+}$ ), on the intravital organization of microtubules in various types of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. root cells was investigated using laser scanning microscopy. To visualize the microtubules *in vivo*, the *Arabidopsis* line that expresses chimeric gene *gfp-map4* was used. It was shown that  $Ni^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  break the organization and orientation of microtubules in cells, leading to morphological changes of the root, as the main body of the plant, the first to be intoxicated by soil pollutants. It was found that the most sensitive to the effect of cadmium and nickel are microtubules of the cell division zones and transition zone of *A. thaliana* root. Cadmium has the strongest toxic effect which causes changes in microtubule organization of meristematic cells, cortex cells of the elongation zone and differentiation zone.

Key words: root cells, cytoskeleton, microtubules, heavy metals, nickel, cadmium.

---

## НОВІ ВИДАННЯ

---

Мосякін С.Л., Новіков О.М., Мосякіна Н.Т., Поліхун Н.І. Науковий метод для молодих дослідників. Посібник для учнів та освітян — учасників науково-технічних конкурсів учнівської молоді / Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України, Українське ботанічне товариство, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», Інститут обдарованої дитини НАПН України. — К.: Наш Формат, 2015. — 72 с.

У посібнику стисло викладені засади наукового методу та сучасної базової наукової методології, подано деякі практичні рекомендації як для учнів, так і для освітян, які беруть участь у міжнародних і національних науково-технічних конкурсах учнівської молоді. Викладені матеріали ґрунтуються на досвіді авторів, задіяних у різних національних і міжнародних заходах за програмою Intel ISEF (Intel International Science and Engineering Fair), а також в інших науково-освітніх проектах із залученням наукової молоді (від старшокласників середніх навчальних закладів до студентів вищів та аспірантів). Розглянуті окремі питання практичного застосування дослідницьких методів в освіті, STEM-освіті, наукової етики та використання англійської мови в науково-проектній діяльності шкільної молоді.

Видання здійснене за підтримки Відділу преси, освіти та культури Посольства США в Україні в рамках проекту «Developing a Manual on the Scientific Method and relevant resources for students and educators participating in national and international science fairs for high school students».

Посібник розрахований на учасників конкурсів Intel ISEF в Україні, інших науково-освітніх конкурсів та олімпіад, студентів і викладачів, усіх тих, хто цікавиться проектними та дослідницькими методами навчання.