

## 7. Streszczenie

Nikiel (Ni) jest zaklasyfikowany do mikroelementów i w niskich dawkach korzystnie wpływa na wzrost i rozwój roślin. Jednak w nadmiernych stężeniach pierwiastek ten wykazuje działanie fitotoksyczne. Działanie niklu jest wielokierunkowe, jednak uważa się że u podstaw toksyczności tego metalu dla roślin leży wywoływany przez niego stres oksydacyjny, wynikający z zaburzenia równowagi między wytwarzaniem a usuwaniem reaktywnych form tlenu (RFT) przez system antyoksydacyjny. O zaistnieniu stresu oksydacyjnego świadczy obecność w roślinach traktowanych Ni markerów stresu oksydacyjnego takich jak utlenione lipidy czy białka. Fitotoksyczność Ni dla roślin może być także związana z zakłócaniem przebiegu podstawowych przemian metabolicznych. Niekorzystny wpływ Ni na rośliny przejawia się m.in. inhibicją wzrostu i może skutkować znacznym pogorszeniem ilości i jakości plonów roślin uprawnych. Wśród nich szczególnie niską tolerancję na Ni wykazuje ogórek, który jest jednym z najpopularniejszych gatunków warzyw uprawianych na świecie.

Materiał badawczy stanowiły siewki ogórka (*Cucumis sativus*) odmiany Cezar uprawiane metodą hydroponiczną na pożywce Hoaglanda, nie zawierającą Ni (kontrola) bądź z dodatkiem Ni o stężeniu 10  $\mu\text{M}$ . Po 2 i 3 tygodniach do analiz pobierano I i II liść oraz korzeń roślin kontrolnych i traktowanych Ni.

Głównym celem pracy było zbadanie wpływu Ni na parametry związane ze stresem oksydacyjnym oraz metabolizmem azotu. Właściwe analizy poprzedzone były badaniami podstawowymi mającymi na celu określenie wpływu zastosowanej dawki Ni na parametry wzrostowe siewek ogórka, parametry związane z fotosyntezą, zawartość pierwiastków, w tym Ni. Wpływ Ni na procesy pro- i antyoksydacyjne badano oceniając zawartość wybranych RFT: anionorodnika ponadtlenkowego ( $\text{O}_2^-$ ) i nadtlenku wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), poziom wczesnych i końcowych produktów peroksydacji lipidów jako markerów stresu oksydacyjnego, a także aktywność enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy askorbinianowej (APX), peroksydazy glutationowej (GSH-Px) oraz peroksydaz klasy III oznaczanych wobec guajakolu (GPOX) i syringaldazyny (SPOX). Ponadto oznaczano aktywność S-transferazy glutationowej (GST), przepuszczalność błon, profil fosfolipidów i stopień ich nienasylenia. Przeprowadzono również analizę profilu związków fenolowych i aktywności amoniakolizy L-fenylalaniny (PAL). Wpływ Ni na metabolizm azotu monitorowano poprzez analizę aktywności uczestniczących w nim enzymów: reduktazy azotanowej (NR), reduktazy azotynowej (NiR), syntetazy glutaminowej (GS), syntazy glutaminianowej (GOGAT) i dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) oraz analizę

zawartości jonów azotanowych ( $\text{NO}_3^-$ ), amonowych ( $\text{NH}_4^+$ ) oraz kwasu glutaminowego. Wykonano także analizę profilu ekspresji genów dla białek związanych z metabolizmem azotu.

Przeprowadzone badania wykazały, że wywołany działaniem Ni stopień zahamowania wzrostu był zależny od organu rośliny i tylko w przypadku korzenia korelował z akumulacją metalu w tkankach. Nikiel może wpływać negatywnie na fotosyntezę poprzez obniżenie zawartości barwników asymilacyjnych i zmniejszenie wydajności kwantowej fotoukładu II. Obserwowany w siewkach ogórka traktowanych Ni wzrost aktywności peroksydazy oznaczanej wobec syringaldazy sugeruje indukcję procesu lignifikacji.

Nikiel wywołał w liściach ogórka akumulację  $\text{O}_2^-$  i  $\text{H}_2\text{O}_2$ , która mogła częściowo wynikać z indukowanego działaniem Ni obniżenia aktywności SOD i CAT. W usuwaniu  $\text{H}_2\text{O}_2$  w liściach siewek ogórka w warunkach stresu Ni zaangażowane są głównie APX i peroksydazy klasy III. Nikiel wywołuje w liściach ogórka oksydacyjne uszkodzenia lipidów, na co wskazuje wzrost zawartości wczesnych (wodorotlenki kwasów tłuszczowych i ich pochodne) i końcowych (MDA) produktów ich peroksydacji. W regulację poziomu produktów peroksydacji lipidów mogą być zaangażowane GST i GSH-Px. Pod wpływem Ni w liściach siewek ogórka dochodzi do zmian w profilu fosfolipidów i wzrostu stopnia ich nienasylenia, co może być przyczyną zwiększenia przepuszczalności błon plazmatycznych.

Ekspozycja siewek ogórka na działanie Ni spowodowała modyfikacje profilu związków fenolowych w liściu I i korzeniu polegające na zmianie zawartości poszczególnych związków, jak również na zanikaniu czy pojawianiu się nowych, nieobecnych w kontroli związków. W obydwu badanych organach Ni spowodował wzrost zawartości wolnych kwasów fenolowych i nasilił proces ich uwalniania z postaci związanej.

Nikiel ingeruje w metabolizm azotowy siewek ogórka m.in. poprzez ograniczenie pobierania jonów  $\text{NO}_3^-$ , a także poprzez zmiany w aktywności enzymów uczestniczących w przemianach azotu. Wywołany działaniem Ni spadek aktywności Fd-GOGAT, dominującej formy tego enzymu w liściach, może być częściowo rekompensowany przez wzrost aktywności NADH-GOGAT. Pomimo znacznego wzrostu aktywności NADH-GDH oraz NADH-GOGAT w liściach nie obserwuje się wzrostu zawartości glutaminianu będącego produktem reakcji katalizowanej przez te enzymy. Jediną nieinhibowaną przez Ni reakcją prowadzącą do powstania glutaminianu w korzeniach jest ta katalizowana przez NADH-GDH. Nikiel wpływa także na zmiany w ekspresji genów kodujących enzymy zaangażowane w metabolizm azotowy. Jednak jednoczesny wzrost ekspresji genów i aktywności stwierdzono tylko dla GDH.

*Nikiel*