

**ЭПР-ИССЛЕДОВАНИЕ АККУМУЛЯЦИИ И ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ
ЖЕЛЕЗА И МЕДИ В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ *Solanum tuberosum* L. *in vitro*****С. С. Хуцишвили^{1*}, А. И. Перфильева², О. А. Ножкина², А. Ю. Дыркач³**

УДК 543.429.22:635.21:(546.56+546.72)

<https://doi.org/10.47612/0514-7506-2022-89-2-238-245>¹ Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО Российской АН, Новосибирск, Россия; e-mail: khutsishvili_sp@yahoo.com² Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО Российской АН, Иркутск, Россия³ Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия

(Поступила 8 декабря 2021)

Исследованы миграция и накопление ионов железа и меди в процессе вегетации пробирочного картофеля *Solanum tuberosum* L. Форма и содержание металлов в тканях картофеля, выращиваемого в факторостатных условиях, определены с помощью элементного анализа и методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Токсическое действие исследуемых тяжелых металлов проявляется в физико-химических характеристиках (изменении сигнала ЭПР и накоплении металла в органах растений) и биометрических показателях с увеличением содержания солей металлов в питательной среде. В спектрах ЭПР обнаруживается узкий синглет, характерный для стабильных семихиноновых радикалов.

Ключевые слова: электронный парамагнитный резонанс, медь, железо, картофель, накопление металла.

The migration and accumulation of iron and copper ions in the process of growing *Solanum tuberosum* L. vial potatoes have been studied. The form and content of the metals in the tissues of potatoes grown under factorostatic conditions have been determined by elemental analysis and electron paramagnetic resonance (EPR) method. The toxic effect of the studied heavy metals has been expressed in terms of physical-chemical characteristics (change in the EPR signals and metal accumulation in plant organs) and biometric parameters with an increase in the content of metal salts in the nutrient medium. In addition, the EPR spectra showed a narrow singlet typical for stable semiquinone radicals.

Keywords: electron paramagnetic resonance, copper, iron, potato, metal accumulation.

Введение. Микроэлементы, в частности железо (Fe) и медь (Cu), занимают важное место во многих биохимических процессах, происходящих в растениях [1—3]. Так, железо является компонентом кофакторов ферментов, которые выполняют функции переноса электронов, участвуют в регуляции стабильности белков при стрессе и способствуют химическим превращениям, таким как гидроксилирование, радикально-опосредованным перегруппировкам и реакциям (де)гидратации [1, 4]. Медь также играет ключевую роль в различных ферментативных реакциях, фотосинтетических и дыхательных цепях переноса электронов, в функционировании клеточной стенки и защитных процессах от окислительного стресса [2, 5]. Дефицит Fe и Cu влияет на метаболизм растений, недостаток этих элементов вызывает серьезные заболевания и низкую урожайность сельскохозяйственных растений [6]. При избытке Fe и Cu в тканях растений может наблюдаться хлороз, оказывающий негативное влия-

**EPR STUDY OF ACCUMULATION AND TOXIC EFFECT OF IRON AND COPPER DURING
THE DEVELOPMENT OF *Solanum tuberosum* L. *in vitro***

S. S. Khutsishvili^{1*}, A. I. Perfileva², O. A. Nozhkina², A. Yu. Dyrkach³ (¹ N. N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia; e-mail: khutsishvili_sp@yahoo.com; ² Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia; ³ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia)

ние на урожайность культур [2, 7]. Таким образом, исследование обмена веществ и способов обеспечения оптимального питания картофеля *Solanum tuberosum* L., который является одной из важнейших сельскохозяйственных культур не только в России, но и в мире, представляет большой интерес.

Несмотря на традиционное использование в сельском хозяйстве, в результате антропогенной деятельности Fe и Cu широко выбрасываются с промышленными отходами в окружающую среду, что приводит к ее загрязнению [8—11]. Загрязнение тяжелыми металлами, в частности Fe и Cu, — одна из самых серьезных экологических проблем, с которыми сталкивается человечество. В отличие от других тяжелых металлов (таких как кадмий, свинец и ртуть), Fe и Cu характеризуются низкой биоаккумуляцией, поэтому их токсичность для человека и других млекопитающих относительно невысока [5]. В то же время растения очень чувствительны к токсичности Fe и Cu и демонстрируют метаболические нарушения и задержку роста при содержании этих металлов в тканях, даже немного превышающем нормальный уровень. Избыток этих металлов подавляет большое количество ферментов и нарушает некоторые биохимические процессы растений, в том числе фотосинтез, синтез пигментов и целостность мембран. Влияние Fe и Cu на физиологию растений широко варьируется, включая вмешательство в метаболизм жирных кислот и белков, а также ингибирование процессов дыхания и азотфиксации [5, 12, 13]. На уровне развития растения эти металлы являются ингибиторами вегетативного роста и вызывают общие симптомы старения. Различные окислительные процессы и активность ферментов обычно связаны с образованием свободных радикалов, а большинство важных ферментов содержат в своем составе ионы металлов, в том числе Fe и Cu. Возможно, наиболее важный эффект связан с блокированием фотосинтетического транспорта электронов, что приводит к образованию радикалов, которые запускают цепные перекисные реакции с участием липидов мембран. Поскольку все эти изменения часто связаны с возникновением неспаренного электрона в электронном окружении самого иона металла или органических радикалов, их можно обнаруживать и характеризовать с помощью метода ЭПР [14—16].

В настоящей работе исследовано качественное и количественное влияние различных концентраций Fe и Cu в процессе вегетации сельскохозяйственных культур на примере модельной системы картофеля *Solanum tuberosum* L. *in vitro*, получены новые сведения о механизме миграции ионов металлов, их общем токсикологическом влиянии на развитие растений и выявлены оптимальные условия поступления Fe и Cu в организм растения. Актуальны изучение развития картофеля на засоленных почвах и в личных подсобных хозяйствах вблизи промышленных предприятий, а также оценка возможности растения по накоплению металла. В определенных регионах и окружающей среде присутствует избыток Fe и Cu, что может быть потенциально токсичным для растений, вызывая фитотоксичность за счет образования активных кислородных радикалов, которые повреждают клетки, из-за взаимодействия с белками, нарушающими ключевые клеточные процессы, инактивируя ферменты и вызывая нарушение структуры белка. Растения имеют сложные пути транспортировки металлов для поддержания гомеостаза Fe и Cu в ответ на изменения их уровня в окружающей среде. Картофель выбран в качестве объекта исследований, так как является чувствительным растением к содержанию Fe и Cu [17, 18], а в решении указанных проблем спектроскопия ЭПР представляется одним из наиболее эффективных методов исследования парамагнитных частиц, например радикальной активности, или ионов металлов в биохимических процессах растений.

Эксперимент. Для исследования использовались растения *in vitro* сорта “Лукьяновский”. Культивирование растений картофеля на питательной среде Мурасиге-Скуга (Sigma-Aldrich Inc., США) [19], куда Fe и Cu вносятся в виде солей кристаллогидрата сульфата железа $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (в виде растворимых хелатов в соотношении соли железа к ЭДТА 1:1.34) и меди $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Эксперименты с изменением концентрации проводили от 0.557 и 0.025 г/л солей железа и меди (массовое содержание соли для контроля), соответственно, по прописи в питательной среде Мурасиге-Скуга. Содержание солей в среде увеличивали до двукратного (для железа) и стократного (для меди) превышения нормы для исследования токсичного воздействия и аккумуляции металла в органах растения. Использовались варианты питательной среды без соли и с увеличением ее содержания в 2, 5, 10, 20 и 100 раз от нормы (концентрация контроля в среде 2.0 и 0.1 ммоль/л для сульфата железа и для сульфата меди). Растения культивировали в факторостатных условиях при температуре 24—25 °С, освещенности 5—6 кЛк и продолжительности фотопериода 16 ч в течение 28 сут, периодически измеряя длину и подсчитывая количество листьев. По окончании эксперимента определяли биомассу надземной части и биомассу корней, проводили физико-химические анализы растительного материала. Независимые эксперименты выполнены в трех повторностях, в каждом варианте выращивали по де-

сая растений. Для физико-химических экспериментов использованы три растения из каждого варианта. Выполнен статистический анализ результатов с использованием встроенного программного пакета в MS Excel 2007, сравнение с контролем проводилось в соответствии с критерием Манна—Уитни.

Содержание меди и железа (мас.%) определено с помощью атомно-абсорбционного анализа с использованием сканирующего электронного микроскопа Hitachi FlexSEM 1000 II с энергодисперсионной приставкой для элементного анализа EDX AzTec. Элементный анализ выполнен на корнях, микроклубнях, стеблях и листьях для каждой серии растений, выращенных с различной концентрацией соли по методике [20]. Биологический материал высушивался в сухожаровом шкафу СПИ-80-02 СПУ при температуре 60 °С в течение 32 ч и далее прокаливался в муфельной печи LOIF LF-5/11-G1 при 600 °С в течение 3 ч, полученная зола анализировалась на содержание металла. Количество повторов для каждого образца не менее пяти, областей измерения — пять на каждом образце.

ЭПР-спектры зарегистрированы на спектрометре Bruker ELEXSYS E-540 (X-диапазон 9.8 ГГц) при комнатной температуре в кварцевых ампулах диаметром 3 мм в следующих условиях: модуляция амплитуды 1—10 Гс, модуляция частоты 100 кГц, развертка поля 6000 Гс/центр поля 3480 Гс, константа времени 0.02 с, время конверсии 0.06 с, микроволновая мощность 0.6325 мВт, усиление приемника 60 дБ, среднее количество сканов 20.

Результаты и их обсуждение. Исследования по влиянию Fe и Cu на развитие растений проводили в зависимости от содержания солей сульфата железа или меди в питательной среде вплоть до двух- и стократного превышения, соответственно, в сравнении с контролем для изучения эффектов дефицита, токсичности и накопления элементов в органах растений (табл. 1 и 2). Большая часть Fe в растениях находится в трехвалентном состоянии, ионы Fe^{3+} в корнях связываются различными транспортными молекулами и движутся в виде цитратных комплексов [1, 21, 22]. Подвижность Fe во флоэме средняя и выше, чем у Ca, Cu или Mn, и культивирование растений в среде, обогащенной растворимыми формами Fe, может приводить к его чрезмерному поглощению и аккумуляции. Действительно, даже небольшое повышение содержания Fe в среде приводит к его накоплению во всех исследуемых органах растения, что негативно отражается на развитии и вызывает его торможение и гибель растения. Отметим, что накопление Fe наблюдается не только в корневой системе, но и в фотосинтезирующей части картофеля, а также в микроклубнях (табл. 1).

В то же время картофель толерантен к значительному увеличению Cu в среде, что позволяет оценить влияние этого элемента на картофель с большим разбросом концентрации сульфата меди (табл. 2). По данным элементного анализа, накопления Cu в органах растений с ростом содержания соли в среде культивирования не обнаруживается. Гомеостаз ионов меди сложен, считается, что корневая система является серьезным барьером для проникновения Cu в растение [23—25]. Физиологическое проявление токсичности меди сказывается в первую очередь на развитии корня, из-за чего

Т а б л и ц а 1. Аккумуляция Fe (мас.%±среднеквадратическое отклонение) в органах картофеля, выращенных на средах с различной концентрацией сульфата железа

Сульфат железа, ммоль/л	Корни	Стебли	Листья	Микроклубни
0	0.05±0.03	0.04±0.03	0.15±0.03	0.01±0.01
2.0 (контроль)	0.39±0.04	0.04±0.01	0.18±0.04	—
4.0	1.64±0.04	0.71±0.01	0.23±0.04	0.12±0.03

Т а б л и ц а 2. Аккумуляция Cu (мас.%±среднеквадратическое отклонение) в органах картофеля, выращенных на средах с различной концентрацией сульфата меди

Сульфат меди, ммоль/л	Корни	Стебли	Листья
0	0.14±0.05	0.01±0.01	0.05±0.01
0.1 (контроль)	0.15±0.06	0.07±0.06	0.02±0.01
0.2	0.15±0.06	0.02±0.01	0.10±0.05
0.5	0.23±0.07	0.08±0.02	0.08±0.05
1.0	0.14±0.06	0.05±0.01	0.06±0.01
2.0	0.19±0.06	0.01±0.01	0.01±0.01
10.0	0.08±0.01	0.01±0.01	0.09±0.03

надземная часть растения может и не отражать истинного состояния организма. Увеличение концентрации Cu в питательной среде ингибирует многие процессы в корне, нарушает его морфологию, рост и развитие вплоть до полного отмирания [24].

В спектрах ЭПР всех органов растения наблюдается сложная картина с комплексом сигналов различных ионов металлов, а также узкая линия с g -фактором ≈ 2.00 от свободных радикалов (рис. 1). Так, в спектрах можно отчетливо различить сигнал с $g \approx 4.3$, характерный для ионов Fe^{3+} в ромбической симметрии [26—28]. При этом сигнал для комплексов железа в области $g \approx 2.0$ может быть частью сложного широкого сигнала, представляющего собой суперпозицию линий с эффективным g -фактором 2.2 [29, 30]. Линии, обусловленные ионами Cu^{2+} , также обнаруживаются в области эффективного g -фактора $g_{\perp} \approx 2.2$. Вследствие относительно большой ширины индивидуальной линии ($\Delta H \approx 80$ Гс) в спектрах отчетливо разрешается только сверхтонкая структура (СТС) от ядер Cu^{2+} ($I = 3/2$) в параллельной ориентации $g_{\parallel} = 2.63$ и $A_{\text{Cu}} = 230$ Гс (рис. 1). Эти значения находятся в пределах, типичных для комплексов Cu(II) в почти квадратной плоской координации, а уширение, по-видимому, связано с диполь-дипольными взаимодействиями между ионами [31—33]. Отметим, что в спектрах всех тканей растений практически всегда отчетливо наблюдается СТС из шести линий от ядра марганца Mn^{2+} ($I = 5/2$) с характеристиками $g = 2.004(1)$ и константой $A_{\text{Mn}} = 94(2)$ Гс [14, 34] (рис. 1). Характерный сигнал со структурой СТС типичен для свободно вращающихся ионов марганца в октаэдрическом водном окружении комплекса $\text{Mn(H}_2\text{O)}_6^{2+}$ и часто наблюдается в различных биологических материалах растений [35].

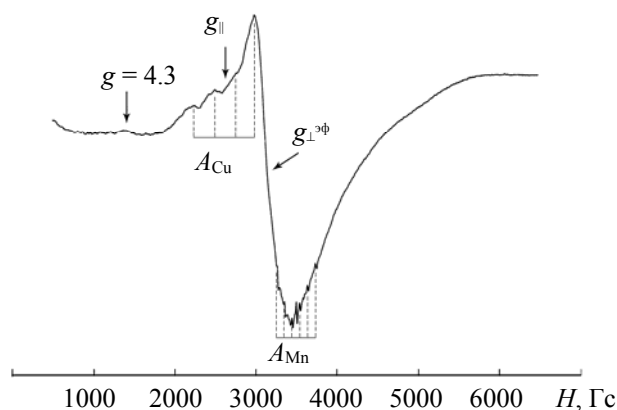


Рис. 1. Типичный ЭПР-спектр стеблей картофеля (контроль)

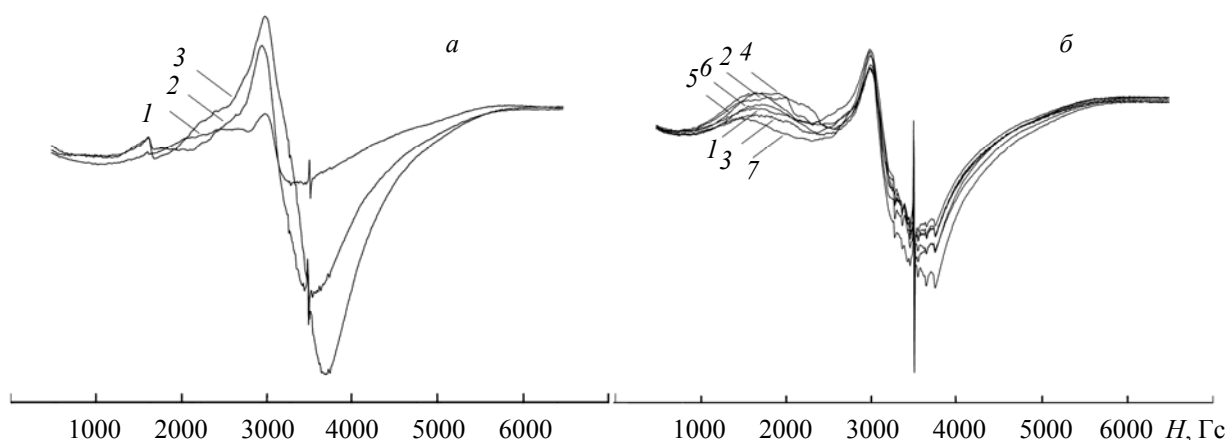


Рис. 2. ЭПР-спектры корней картофеля, выращенного при концентрациях сульфата железа 0 (1), 2.0 (2) и 4.0 ммоль/л (3) (а) и сульфата меди 0 (1), 0.1 (2), 0.2 (3), 0.5 (4), 1.0 (5), 2.0 (6) и 10.0 ммоль/л (7) (б)

Исследование тканей картофеля показало рост интенсивности сигналов в $\sim 6\text{--}7$ раз с $g \approx 4.3$ и 2.0 с ростом содержания соли железа в питательной среде (рис. 2, а), что подтверждает концентрирование парамагнитных ионов Fe^{3+} в растительном материале. При этом с увеличением содержания соли меди в питательной среде вплоть до 10.0 ммоль/л не наблюдается системы и последовательного роста интенсивности сигнала (рис. 2, б). Полученные результаты согласуются с данными элементного анализа тканей картофеля.

Как в тканях фотосинтезирующей части растения, так и в корнях и микроклубнях картофеля в спектрах ЭПР наблюдается синглет с $g = 2.005(1)$ и $\Delta H = 8(1)$ Гс (рис. 3). Спектральные параметры регистрируемого сигнала характерны для долгоживущих стабильных семихиноновых радикалов [34—36]. Сигналы этих радикалов обнаруживаются во многих растительных материалах, а уровень семихиноновых радикалов часто может быть индикатором устойчивости растений к стрессам, таким как повреждение клеточной структуры, при потере воды, токсичном воздействии тяжелых металлов и др. В процессе каскадных защитных механизмов в растении происходит накопление и окисление фенольных соединений, при окислении образуются семихиноновые радикалы, проявляющие высокую реактивность и цитотоксичность [37, 38]. Токсичность хинонов в значительной степени является следствием промежуточных реакционноспособных кислородных соединений, образующихся во время окислительно-восстановительного цикла между окисленными хинонами и восстановленными фенолами [39, 40]. Например, семихиноновые радикалы легко отдают электроны молекулярному кислороду, образуя супероксид-анионы ($\text{O}_2^{\cdot-}$) [41].

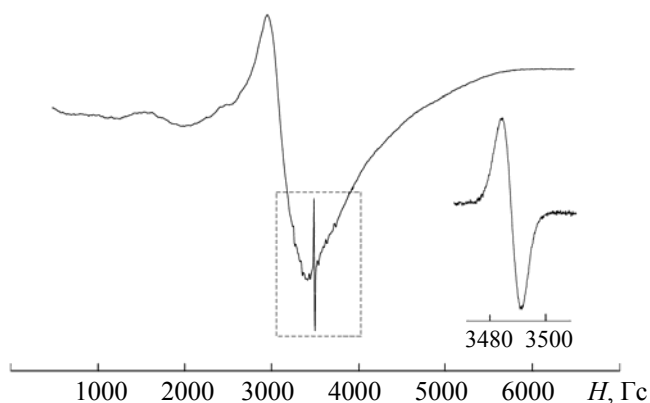


Рис. 3. ЭПР-спектр листьев картофеля (контроль);
на вставке — синглет в узком диапазоне

Увеличение содержания Fe и Cu в питательной среде оказывает различное влияние на рост и развитие растений, что отражается на их биометрических параметрах (рис. 4, табл. 3). Так, на 7 сут инкубации растений, выращенных при различных концентрациях сульфата железа, растения контроля и картофель, выращенный на среде без соли, характеризуются жизнеспособной вегетативной частью. В варианте с двукратным увеличением сульфата железа (4.0 ммоль/л) у растений цвет надземной части уже желто-зеленый и наблюдаются некротические пятна. В вариантах с более высокой кратностью содержания Fe в питательной среде большинство растений не выживали, были с пожелтевшими листьями и множественными некротическими пятнами. Спустя 28 сут картофель, выросший на среде без соли железа, демонстрирует отсутствие корней у половины исследуемых растений, у части растений единично встречаются пожелтения листьев. В то же время в варианте с двукратным увеличением соли почти у всех растений отсутствуют корни, листья еще сохраняют зеленый цвет. Обнаружены растения, у которых отсутствует тургор. У части растений, инкубируемых на средах без сульфата железа и с его двукратным увеличением, имеются микроклубни, что свидетельствует о неблагоприятных условиях для картофеля. Для контрольной группы наблюдаются развитая корневая система, ярко-зеленый цвет надземной части, единично встречаются желтые листья.

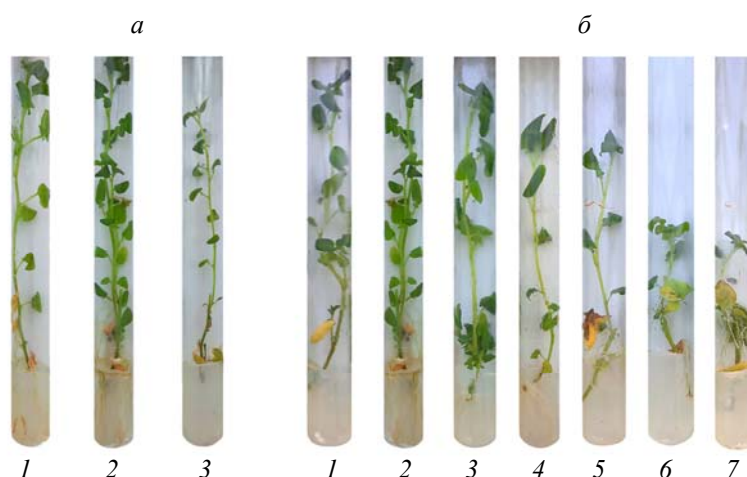


Рис. 4. Растения, выращенные при концентрациях сульфата железа 0 (1), 2.0 (2) и 4.0 ммоль/л (3) (а) и сульфата меди 0 (1), 0.1 (2), 0.2 (3), 0.5 (4), 1.0 (5), 2.0 (6) и 10.0 ммоль/л (7) (б)

В эксперименте с инкубацией растений, выращенных при различных концентрациях сульфата меди (табл. 3), на 14 сут в контроле картофель имеет развитую корневую систему, ярко-зеленую окраску листьев и лишь единично встречаются желтые листья. Растения, выросшие без соли меди или на среде с ее удвоенным содержанием (0.2 ммоль/л), практически не отличаются от контроля. У картофеля, инкубируемого на среде с более высокой кратностью 5—100 раз (0.5—10.0 ммоль/л) содержания соли меди в среде, все еще наблюдаются развитая корневая система и листья ярко-зеленого цвета, внешне он выглядит вполне жизнеспособным, однако на стеблях и листьях имеются некротические пятна, особенно в случае стократного увеличения Cu в среде. По визуальным наблюдениям в конце эксперимента (28 сут), если у контрольных растений и растений, выросших на среде без меди или с ее удвоенным содержанием, корневая система развита хорошо, а листья крупные ярко-зеленого цвета и только 2—3 листа на нижнем ярусе пожелтевшие, то картофель, инкубируемый на среде с 5- и 10-кратным превышением содержания Cu (0.5 и 1.0 ммоль/л), имеет слабо развитую корневую систему, а у половины растений желтые листья на нижнем ярусе. У картофеля в варианте с 20- и 100-кратным превышением содержания Cu (2.0 и 10.0 ммоль/л) корневая система развита слабо, на стеблях отмечаются некротические пятна, а листья на нижнем ярусе желтого цвета с некрозами. У картофеля, растущего на среде с содержанием соли меди 10.0 ммоль/л, отмечаются более длинные междоузлия и пожелтевшие концы листовых пластинок.

Т а б л и ц а 3. Биометрические параметры ($M \pm SE$) (длины и количества листьев картофеля в процессе развития растений при различных концентрациях сульфата железа и сульфата меди)

Концентрация соли, ммоль/л	Длина растений			Количество листьев		
	7 сут	14 сут	28 сут	7 сут	14 сут	28 сут
Сульфат железа						
0	4.8±0.5	6.6±0.6	7.2±0.6	6.5±0.4	10.1±0.8	9.4±0.6*
2.0 (контроль)	5.2±0.4	7.5±0.7	9.2±0.7	7.7±0.5	11.5±0.8	11.7±0.6
4.0	4.2±0.6*	5.4±0.8*	6.5±0.9*	4.2±0.4**	8.2±0.5**	8.1±0.6**
Сульфат меди						
0	3.1±0.1	4.6±0.4	8.0±0.5	4.2±0.3	6.4±0.4	9.7±0.6**
0.1 (контроль)	3.0±0.2	9.9±0.5	8.8±0.6	4.2±0.3	7.1±0.4	11.4±0.4
0.2	3.3±0.2	5.7±0.3*	10.3±0.5*	3.8±0.3	6.9±0.5	11.6±0.8
0.5	3.2±0.2	4.8±0.3	8.6±0.6	4.7±0.3	7.2±0.4	10.2±0.4*
1.0	3.0±0.1	4.9±0.4	9.5±0.5	4.4±0.5	6.2±0.5*	8.9±0.5**
2.0	2.9±0.2	4.4±0.2	7.7±0.5	4.3±0.2	6.4±0.4	9.2±0.4**
10.0	3.6±0.2*	4.7±0.4	9.1±0.6	4.6±0.5	6.3±0.4	9.7±0.5**

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ в сравнении с контролем по критерию Манна—Уитни.

Таким образом, токсическое влияние аккумуляции Fe в культуре *Solanum tuberosum* L. проявляется нарастающим масштабом дисфункций в организме картофеля и в итоге гибелью растения. Отметим, что симптомы железистой токсичности неспецифичны и могут проявляться по-разному в зависимости от вида и стадии развития растений [1]. В то же время с увеличением концентрации Cu в питательной среде происходит постепенное подавление развития растений. Так, у растений, инкубируемых на питательных средах с повышенным содержанием соли меди (в пять и более раз по сравнению с контролем), угнетено развитие корневой системы, в надземных органах отмечены пожелтение, некротические пятна, что свидетельствует о развитии картофеля в неблагоприятных условиях. Растительное сырье является одним из путей поступления тяжелых металлов в организм человека. Однако в сельскохозяйственных растениях содержание тяжелых металлов до сих пор не всегда строго нормируется. Особенно это важно с развитием современных металлосодержащих наноматериалов для сельского хозяйства [34, 42—44].

Заключение. Показано, что при дефиците и с увеличением засоленности питательной среды имеет место подавление развития *Solanum tuberosum* L. Особенно картофель крайне чувствителен к превышению содержания железа. С ростом содержания меди в среде до 10 ммоль/л наблюдаются медленный рост растений, некроз стеблей, пожелтение и высыхание листьев картофеля. В спектрах электронного парамагнитного резонанса в тканях картофеля регистрируются характерные сигналы различных комплексов магнитных ионов Fe^{3+} , Cu^{2+} и Mn^{2+} . Также в спектрах электронного парамагнитного резонанса обнаруживается слабый узкий синглет, относящийся к стабильным семихиноновым радикалам, которые формируются в клеточных окислительных реакциях и являются показателем стрессовых состояний растения. Избыток содержания Cu в питательной среде не проявляется в накоплении металла в органах растения, а увеличение содержания Fe сопровождается его значительной аккумуляцией во всех органах и сильным токсичным действием. Имеется прямая взаимосвязь между накоплением металла в тканях растения и его жизнеспособностью. Согласно полученным данным, растения картофеля *in vitro* выживали и без исследуемых микросолей в питательной среде. При изучении влияния различных концентраций на жизнеспособность картофеля обнаружено, что растения более устойчивы к увеличению содержания Cu по сравнению с повышением концентрации железа в питательной среде.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-016-00152).

Авторы выражают благодарность Биоресурсному центру коллективного пользования (Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН) и Химическому исследовательскому центру коллективного пользования СО РАН (Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН).

- [1] G. R. Rout, S. Sahoo. Rev. Agric. Sci., **3** (2015) 1—24
- [2] I. Yruela. Braz. J. Plant Physiol., **17**, N 1 (2005) 145—156
- [3] E. G. Mulder. Plant Soil, **2**, N 1 (1949) 59—121
- [4] J. M. Connorton, J. Balk, J. Rodríguez-Celma. Metallomics, **9**, N 7 (2017) 813—823
- [5] J. C. Fernandes, F. S. Henriques. Bot. Rev., **57** (1991) 246—273
- [6] W. G. Hopkins, N. P. A. Huner. Introduction to Plant Physiology, 4th ed., J. Wiley & Sons, New York (2008)
- [7] N. Terry, A. M. Zayed. Iron Nutrition in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences, **59**, Springer, Dordrecht (1995) 283—294
- [8] А. Ф. Мейсурова, А. А. Нотов. Журн. прикл. спектр., **83** (2016) 794—802 [A. F. Meysurova, A. A. Notov. J. Appl. Spectr., **83** (2016) 832—839]
- [9] J. Briffa, E. Sinagra, R. Blundell. Heliyon, **6**, N 9 (2020) e04691
- [10] А. Ф. Мейсурова, А. А. Нотов. Журн. прикл. спектр., **87** (2020) 97—107 [A. F. Meysurova, A. A. Notov. J. Appl. Spectr., **87** (2020) 83—91]
- [11] S. S. Khutsishvili, A. I. Perfilova, O. A. Nozhkina, A. Yu. Dyrkach, T. N. Borodina, N. I. Tikhonov, T. I. Vakul'skaya. Magn. Res. Solids, **22** (2020) 20301
- [12] E. L. Connolly, M. Guerinot. Genome Biol., **3**, N 8 (2002) 1024
- [13] H. Yamasaki, M. Pilon, T. Shikanai. Plant Signal. Behav., **3**, N 4, (2008) 231—232

- [14] **D. J. E. Ingram.** Biological and Biochemical Applications of Electron Spin Resonance, Adam Hilder Ltd., London (1969).
- [15] **S. S. Khutsishvili, M. V. Lesnichaya, T. I. Vakul'skaya, G. Dolmaa, G. P. Aleksandrova, A. L. Rakevich, B. G. Sukhov.** Spectr. Lett., **51**, N 4 (2018) 169—173
- [16] **П. В. Бондаренко, Ле Тхи Бич Нгуен, С. Е. Журавлева, Э. М. Трухан.** Журн. прикл. спектр., **84** (2017) 623—627 [**P. V. Bondarenko, L. T. B. Nguyet, S. E. Zhuravleva, E. M. Trukhan.** J. Appl. Spectr., **84** (2017) 646—649]
- [17] **P. V. V. Prasad, M. Djanaguiraman.** Encyclopedia of Applied Plant Sciences, Academic Press, Cambridge (2017) 246—255
- [18] **J. G. Farias, S. T. Nunes, D. Sausen, M. A. G. Nunes, F. A. Neis, L. C. Garlet, P. A. A. Nunes, V. L. Dressler, M. R. C. Schetinger, L. V. Rossato, E. Girotto, G. Brunetto, F. T. Nicoloso.** J. Appl. Bot. Food Qual., **91** (2018) 249—259
- [19] **T. Murashige, F. Skoog.** Physiol. Plant., **15**, N 3 (1962) 473—497
- [20] **M. J. Lambert.** Preparation of Plant Material for Estimating a Wide Range of Elements. Forestry Commission of New South Wales, Sydney (1976)
- [21] **H. Inoue, K. Higuchi, M. Takahashi, H. Nakanishi, S. Mori, N. K. Nishizawa.** Plant J., **36**, N 3 (2003) 366—381
- [22] **H. Ram, S. Sardar, N. Gandas.** Physiol. Plant., **171** (2021) 823—832
- [23] **M. Rehman, L. Liu, Q. Wang, M. H. Saleem, S. Bashir, S. Ullah, D. Peng.** Environ. Sci. Poll. Res., **26** (2019) 18003—18016
- [24] **J. Cambrollé, J. M. Mancilla-Leytón, S. Muñoz-Vallés, E. Figueroa-Lugue, T. Lugue, M. E. Figueroa.** Environ. Sci. Poll. Res., **20** (2013) 8839—8847
- [25] **R. A. Festa, D. J. Thiele.** Curr. Biol., **21**, N 8 (2011) R877—883
- [26] **M. Filek, M. Labanowska, M. Kurdziel, A. Sieprawska.** Toxins, **9**, N 6 (2017) 178
- [27] **G. Giridhar, D. Punyaseshudu, M. V. V. K. Srinivas Prasad, M. Venkateswarlu, G. Srinivas.** Acta Phys. Pol. A, **123** (2013) 761—765
- [28] **G. F. Prozorova, S. A. Korzhova, A. S. Pozdnyakov, A. I. Emel'yanov, S. S. Khutsishvili, T. I. Vakul'skaya.** Russ. J. Appl. Chem., **86**, N 9 (2013) 1452—1455
- [29] **V. Cnockaert, K. Maes, I. Bellemans, T. Crivits, H. Vrielinck, B. Blanpain, K. Verbeken.** J. Non-Cryst. Solids, **536** (2020) 120002
- [30] **S. S. Khutsishvili, T. I. Vakul'skaya, G. P. Aleksandrova, B. G. Sukhov.** Micro Nano Lett., **12**, N 6 (2017) 418—421
- [31] **G. Celiz, S. A. Suarez, A. Arias, J. Molina, C. D. Brondino, F. Doctorovich.** Biometals, **32** (2019) 595—610
- [32] **F. A. Taiwo.** J. Spectrosc. (Hindawi), **17** (2003) 53—63
- [33] **A. V. Artem'ev, O. V. Vysotskaya, L. A. Oparina, A. S. Bogomyakov, S. S. Khutsishvili, I. V. Sterkhova, V. I. Ovcharenko, B. A. Trofimov.** Polyhedron, **119** (2016) 293—299
- [34] **S. S. Khutsishvili, A. I. Perfileva, O. A. Nozhkina, T. V. Ganenko, K. V. Krutovsky.** Int. J. Mol. Sci., **22**, N 21 (2021) 12006
- [35] **M. Labanowska, M. Filek, M. Kurdziel, E. Bednarska, A. Dlubacz, H. Hartikainen.** J. Plant Physiol., **169** (2012) 1234—1242
- [36] **M. Polat, M. Korkmaz.** Food Chem., **107**, N 2 (2008) 956—961
- [37] **I. Morkunas, M. Formela, L. Marczak, M. Stobiecki, W. Bednarski.** Protoplasma, **250** (2013) 63—75
- [38] **J. P. Kehrer.** Crit. Rev. Toxicol., **23**, N 1 (1993) 21—48
- [39] **P. J. O'Brien.** Chem.-Biol. Interact., **80**, N 1 (1991) 1—41
- [40] **J. R. Widhalm, D. Rhodes.** Hort. Res., **3** (2016) 16046
- [41] **B. Testa.** The Metabolism of Drugs and other Xenobiotics, Academic, New York (1995).
- [42] **S. S. Khutsishvili, N. I. Tikhonov, D. V. Pavlov, T. I. Vakul'skaya, M. V. Penzik, A. N. Kozlov, M. V. Lesnichaya, G. P. Aleksandrova, B. G. Sukhov.** J. Therm. Anal. Calorim., **137**, N 4 (2019) 1181—1188
- [43] **S. S. Khutsishvili, T. I. Vakul'skaya, G. P. Aleksandrova, B. G. Sukhov.** J. Clust. Sci., **28**, N 6 (2017) 3067—3074
- [44] **A. I. Perfileva, O. A. Nozhkina, I. A. Graskova, A. V. Sidorov, M. V. Lesnichaya, G. P. Aleksandrova, G. Dolmaa, I. V. Klimenkov, B. G. Sukhov.** Russ. Chem. Bull., **67** (2018) 157—163