

УДК. 633.358:577.73

ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭНДОГЕННЫХ N-ФЕНИЛ-2-НАФТИЛАМИНА И ФТАЛАТОВ В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА (*Pisum sativum* L.)

© 2025 г. Л. Е. Макарова^{1,*}, А. Г. Еникеев¹, П. А. Бизиков¹, А. А. Ищенко¹,
И. Г. Петрова¹, Н. А. Соколова¹, И. С. Капустина¹

¹Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук,
Иркутск, 664033 Россия

*e-mail: makarova@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 27.12.2024 г.

После доработки 28.03.2025 г.

Принята к публикации 28.04.2025 г.

Изучали содержание негативных аллелопатических веществ — N-фенил-2-нафтиламина (N-ФНА) и фталатов — в различающихся по морфо-физиологическим показателям участках корней, в эпикотиле этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.) и в каллусе, полученном из их эпикотилей. Выявление в клетках каллуса N-ФНА, о-фталевой кислоты и фталатов свидетельствовало о самостоятельном биосинтезе этих соединений в клетках растений гороха. По изменениям содержания N-ФНА и фталатов, вызванных воздействием 10^{-4} М нафталина, показано, что к основным локусам биосинтеза этих соединений у проростков гороха, относятся растущая апикальная часть корня и эпикотиль. Предполагается возможность практического использования для ремедиации почв, загрязненных поллютантами ПАУ, бобовых культур, характеризующихся способностью метаболизировать эти вещества с участием поселяющихся в их тканях эндофитных бактерий, способных к деградации ПАУ.

Ключевые слова: эндогенные N-фенил-2-нафтиламин (N-ФНА), фталаты, нафталин, проросток гороха, корень, эпикотиль, каллус

DOI: 10.7868/S3034574X25050077

N-фенил-2-нафтиламин (N-ФНА) и сложные эфиры орто-фталевой кислоты, или фталаты, ряд исследователей относит к веществам техногенного происхождения, а факты обнаружения указанных веществ в биологических объектах объясняют их проникновением в эти объекты из внешней среды [1–3].

N-ФНА впервые изолирован из тканей надземной части 4 видов высших растений около 50 лет тому назад [4, 5]. В последующие годы список растений, содержащих N-ФНА, расширился незначительно. Его обнаружили в цветках *Burleum aureum* [6], у двух видов водных растений [7–8], а также он был выделен из веток *Mitrepheora maingayi* Hook (Annonaceae) [9]. Его присутствие установлено в корнях и корневых экссудатах бобовых культур: *Pisum sativum* L., *Vicia faba* L. var. *major* Hartz и *Glycine max* L. MERR [10]. До сих пор в научной литературе не появлялась информация о механизмах биосинтеза N-ФНА

в клетках растений либо у микроорганизмов. Не обнаружен N-ФНА в клетках бактерий, способных проникать в ткани растений гороха [11]. Данный факт и наличие большого количества N-ФНА в корнях у проростков гороха [12] дают основание предполагать существование в клетках растений гороха автономного биосинтеза этого соединения.

Фталаты обнаруживали в тканях у широкого ряда растительных культур, грибов и в клетках бактерий [13, 14]. У бактерий достаточно детально изучены механизмы образования фталатов из полициклических углеводородов (ПАУ) и их дальнейший катаболизм, выяснены участвующие в этих процессах ферменты и установлены гены, контролируемые синтез этих ферментов [15–18]. Некоторые виды бактерий и грибов обнаруживали способность к самостоятельному биосинтезу фталатов [19, 20]. У растений биосинтез фталатов практически не исследовался. Доказательствами биосинтеза фталатов у растений служат факты

обнаружения фталатов в клетках растительных культур [13], а также данные, установленные изотопными методами у водорослей [21, 22]. Недостаточно исследованы и пути метаболизма фталатов в растениях. Полагают, что фталаты, как и многие поллютанты в растениях, под действием имеющихся в их клетках ферментов подвергаются метаболизму с образованием конъюгатов, изолируемых далее в клеточных структурах [3]. В этом процессе наиболее вероятными промежуточными продуктами могут быть моноэфирные фталаты [23]. К ключевым ферментам, имеющим существенное значение при детоксикации фталатов, относят карбоксилэстеразы [3].

Наряду с растительными клетками вклад в общее содержание фталатов в тканях растений, вероятно, вносят эндофитные и проникающие в растения симбиотические и патогенные бактерии, способные катаболизировать ПАУ или синтезировать фталаты. В частности, у растений гороха такую роль могут выполнять обнаружившие свойство катаболизировать N-ФНА с образованием фталатов эндофитные и проникающие в его ткани почвенные бактерии, принадлежащие к родам *Rhizobium* и *Pseudomonas* [11, 23].

N-ФНА и фталаты относят к негативным аллелохимикатам из-за характера эффектов, наблюдаемых при их действии на биологические объекты [1–3]. Эти высоколипофильные соединения аккумулируются в мембранах, поэтому их неблагоприятное действие чаще проявляется нарушениями метаболических процессов, связанных с указанными структурами [2, 3]. Примечательно, что в мембранных системах негативный эффект N-ФНА выявляли у одноклеточных водорослей и цианобактерий, но он не был зафиксирован у высших растений [2, 24, 25]. При его действии у водорослей и цианобактерий выявлены нарушения в биосинтезе хлорофилла и функционировании фотосистемы II. В клетках цианобактерий пониженные концентрации N-ФНА вызывали повышение синтеза антиоксидантных ферментов, а повышенные – снижение синтеза этих ферментов, окислительный стресс и нарушения в биосинтезе фотосинтетических пигментов [25, 26]. N-ФНА подавлял рост одноклеточных водорослей и цианобактерий [7, 8], а у тестируемых растений при его действии не было замечено существенных изменений в ростовых процессах и в азотном обмене [2].

По степени и характеру влияния на физиологические и метаболические процессы растений фталаты оказались более эффективными, чем N-ФНА. К такому заключению приводит сравнение последствий их действия на рост, развитие и метаболические процессы у растений, представленные в публикациях [2, 3]. Реакции растений на действие различных по структуре фталатов, а также

чувствительность к ним у разных видов растений, согласно данным, приведенным в обзоре [3], может существенно различаться.

Для выяснения физиологического значения N-ФНА и фталатов в растениях немаловажно изучить особенности их биосинтеза и аккумуляции в растительных локусах, различающихся по характеру физиологической нагрузки. Показать на области биосинтеза N-ФНА и фталатов может повышение содержания в них этих соединений, которые, например, фиксировали в корнях у проростков гороха при воздействии на них экзогенного нафталина [12]. Указанный факт позволил предположить существование двух направлений метаболизации нафталина в клетках растений гороха. Первый из них связан с синтезом N-ФНА, второй – с деградацией его по фталатному пути. При этом не до конца ясным остается вопрос о самостоятельности биосинтеза обсуждаемых соединений растительными клетками. Достоверным подтверждением автономного биосинтеза N-ФНА и фталатов в клетках растения является обнаружение этих соединений в клеточных культурах растений, полученных в асептических условиях.

Для выяснения автономного биосинтеза изучаемых соединений были использованы каллусы из тканей эпикотилей проростков гороха. При выявлении локусов аккумуляции N-ФНА и фталатов использовали этиолированные проростки гороха, подвергнутые 24-часовому воздействию 10^{-4} M нафталина.

Содержание исследуемых соединений определяли в отрезках корня и в эпикотиле. При определении границ исследуемых отрезков корней у проростков гороха ориентировались на ранее полученные данные о местоположении участков корня с клетками, функциональная роль которых в корне отличается [28, 29]. Это зона меристемы (участок I), зоны начала и завершения растяжения (соответственно участки II и III) зона дифференцированных клеток (участок IV), 5-миллиметровая часть гипокотила, прилегающая к семядолям (участок V).

Цель работы – получение подтверждения автономного биосинтеза N-ФНА и фталатов клетками проростков гороха (*Pisum sativum* L.) и выяснение основных областей биосинтеза и аккумуляции данных соединений у этих проростков.

МЕТОДИКА

Объекты исследования. В работе использовали этиолированные проростки гороха посевного (*Pisum sativum* L.) сорта Торсдаг. По ранее разработанной схеме [30], проростки выращивали в условиях термостата без освещения при температуре 21°C на влажной фильтровальной бумаге, помещенной в металлические эмалированные кюветы.

Исходными служили проростки, полученные в течение 2 сут от момента замачивания семян, средние размеры корней которых составляли 25–30 мм. Данные проростки на 24 ч помещали на влажную фильтровальную бумагу, смоченную стерильной водой (контроль) или 10^{-4} М раствором нафталина. Через 24 ч экспозиции у проростков при помощи бритвы отделяли отрезки эпикотилей и получали отрезки корней. Границы отрезков корней были на расстоянии 0–2 (зона I), 2–7 (зона II), 7–20 (зона III), 20–25 (зона IV) мм от кончика корня, и в гипокотильной части корня вырезали участок 5 мм (зона V), граничащий с семядолями. Данный растительный материал и каллусы, полученные из эпикотилей проростков гороха, фиксировали горячим 95%-ным этанолом и далее использовали для выделения ароматических соединений.

Получение экстрактов ароматических соединений. Ароматические соединения из растительного материала экстрагировали 95%-ным этанолом, затем при помощи этилацетата по схеме, описанной в публикации [30], где при помощи вакуумного испарителя удаляли этанол из экстракта, подкисляли водный остаток до pH 3–4 и извлекали ароматические соединения в этилацетат, упаривали последний в токе азота и сухой остаток растворяли в метаноле для ВЭЖХ-анализов. Экстракты из каллусов исследовали дополнительно методами ГХ-МС, для чего их перерастворяли из метанола в этилацетат.

Получение культуры клеток гороха. Исходным материалом служили пророщенные в стерильных условиях на дистиллированной воде проростки гороха сорта Торсдаг. Предварительно семена стерилизовали 3%-ной перекисью водорода – 30 мин. Каллусы получали из отрезков эпикотилей. Для инициации каллусообразования использовали солевую среду MS, дополненную следующими компонентами (мг/л): тиамин – 1.0; пиридоксин – 1.0; никотиновая кислота – 1.0; гидролизат казеина – 500; диэтилдитиокарбомат натрия – 5; инозит – 100; 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) – 2; сахароза – 3%; агар-агар – 0.8%. pH среды 5.6. Для длительного выращивания каллусов использовали эту же среду, но концентрация 2,4-Д была снижена до 1 мг/л. Каллусы выращивали в темноте при 26°C. Продолжительность пассажа – 60 сут.

Определение содержания N-ФНА и фталатов методом ВЭЖХ. Изучение содержания веществ в экстрактах проводили на хроматографе “Shimadzu LC-10ATvp” с УФ-детектором (“Shimadzu”, Япония). Для определения содержания N-ФНА и фталатов разделение проводили в системе в возрастающем градиенте – от 20–70% в течение 140 мин при скорости 0.3 мл/мин, где А – ацетонитрил, В – 0.01%-ный водный раствор трифторуксусной кислоты. Объем пробы – 5 мкл. Де-

тектирование соединений проводили при 280 нм. Идентифицировали соединения в адсорбционных профилях по времени удерживания метчиков, которое подтверждали УФ-спектрами, полученными в остановленном потоке элюента для метчиков и для изучаемого вещества. Для идентификации и получения применявшегося для расчетов калибровочного графика использовали аутентичные образцы N-ФНА (“Sigma”, США), ди(2-этил-гексил)фталата, диэтилфталата (“Sigma–Aldrich”, Германия) и н-дибутилфталата (“Реахим”, Россия). Количество N-ФНА и фталатов рассчитывали по калибровочным графикам, полученным для примененной системы разделения. Содержание перечисленных соединений рассчитывали в мкмоль/г сырой массы отрезков корней и эпикотилей проростков гороха.

Идентификация N-ФНА и фталатов в экстрактах из каллусов методом ГХ-МС. Анализ целевых компонентов проводили методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором с использованием 5973/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). Детектор – квадрупольный масс-спектрометр, способ ионизации – электронный удар, энергия ионизации – 70 эВ, для анализа использовали режим регистрации полного ионного тока (SCAN). Объем вводимой пробы – 3.0 мкл, ввод осуществляли в режиме разделения потоков 5 : 1, температура испарителя – 280°C, источника ионов – 230°C, детектора – 150°C, линии, соединяющей хроматограф с масс-спектрометром – 280°C. Диапазон сканирования – 50–550 а.е.м. Подвижная фаза – гелий, скорость потока газа – 1 мл/мин. Для анализа использовали капиллярную колонку HP-5MS (30 м × 0.250 мм × 0.50 мкм), неподвижная фаза – 5%-ный фенилметилполисилоксан. Условия хроматографирования – градиент температуры от 70°C (выдержка 5 мин), затем нагрев до 285°C со скоростью 10°C/мин и выдержка при этой температуре в течение 30 мин. Масс-спектрометр – квадруполь, способ ионизации – электронный удар (ЭУ), энергия ионизации – 70 эВ.

Для анализа целевых компонентов получали их триметилсилильные производные (ТМС) с помощью N,O-bis (триметилселил) ацетамид и гексаметилдисилазана (“Aldrich”, Германия), нагревая смесь этих реактивов с экстрактом образца в течение 30 мин при 70°C. Для идентификации анализируемых соединений использовали библиотеку масс-спектров NIST08, а также проводили сравнение с аутентичными образцами ди(2-этил-гексил)фталата и диэтилфталата (“Sigma–Aldrich”, Германия) и дибутилфталата (“Реахим”, Россия).

Для статистической обработки полученных результатов использовали Microsoft Excel. На рис. 2 и в табл. 2 приведены средние значения и стандарт-

ные отклонения для них, которые получены из трех независимых экспериментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В экстрактах каллусов из эпикотилей проростков гороха, полученных в асептических условиях, методами ВЭЖХ (см. Методику) были идентифицированы N-ФНА и 3 вида фталатов – диэтил-, дибутил- и ди(2-этилгексил)фталаты (рис. 1).

Методом ГХ-МС, при сравнении со стандартами, которое проводили по времени удерживания и путем сравнения масс-спектров (по данным из библиотеки масс-спектров NIST08), в тех же экстрактах подтверждено присутствие N-ФНА, дибутилфталата и ди(2-этилгексил)фталата (табл. 1). По неясной причине методом ГХ-МС в экстрактах из каллуса не идентифицирован диэтилфталат, обнаруживаемый в тех же экстрактах методами ВЭЖХ, хотя и в небольших количествах (рис. 1). При этом в исследуемых каллусах, согласно данным библиотеки масс-спектров NIST08, с высокой вероятностью выявлена *o*-фталевая кислота в виде триметилсилильного эфира, образовавшегося под воздействием силилирующих реагентов, и с невысокой вероятностью – бутил тетрадецилфталат (табл. 1). Следовательно, приведенные данные для каллусов гороха показывают на самостоятельное осуществление клетками растений гороха биосинтеза как N-ФНА, так и фталатов. Выявление

разных видов фталатов показывают на наличие в клетках ферментов, обеспечивающих образование эфирной связи между *o*-фталевой кислотой и несколькими видами алифатических спиртов.

Полученные методом ВЭЖХ количественные показатели содержания в расчете на сырую массу каллуса имели средние значения для N-ФНА 2.49 мкмоль/г, для диэтилфталата – 0.002 мкмоль/г, для дибутилфталата – 0.021 мкмоль/г и для ди(2-этилгексил)фталата – 0.323 мкмоль/г. Выраженная в микромолях суммарная концентрация фталатов в каллусах и в эпикотилях проростков контрольного варианта (табл. 2, рис. 2), различается незначительно, а концентрация N-ФНА в каллусах почти в 1.7 раза выше, чем в эпикотилях.

У проростков гороха содержание N-ФНА и фталатов существенно выше в корнях, чем в эпикотиле (табл. 2, рис. 2). Прежде чем анализировать результаты, следует пояснить принцип, на основе которого корни были разделены в эксперименте на 5 участков. У 3-суточных проростков (отсчет от начала набухания семян) границы участков корня соответствовали расположению установленных ранее зон, различающихся по морфо-физиологическим показателям [28, 29]. Апикальная растущая часть корня была поделена на 3 части. Считая от кончика корня, участок I на расстоянии 0–2 мм включает меристему, участок II на расстоянии 2–7 мм содержит в основном клетки, перешед-

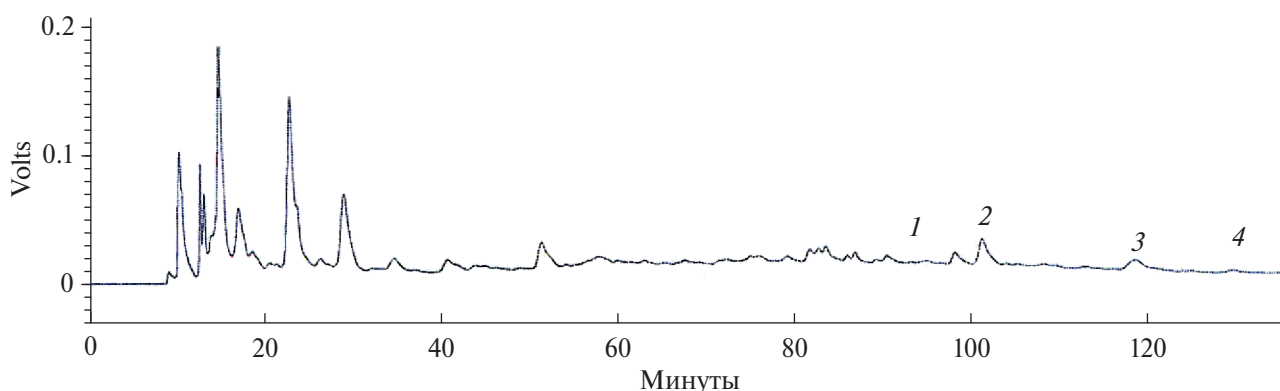


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма соединений в экстрактах из каллусов, полученных из эпикотилей проростков гороха. 1 – диэтилфталат; 2 – N-фенил-2-нафтиламин; 3 – дибутилфталат; 4 – ди(2-этилгексил)фталат.

Таблица 1. Хроматографические параметры для N-ФНА и фталатов в экстрактах каллусов при ГХ-МС-анализе

Соединение	$t_{уд.}$, мин	Ver, %	Относительная площадь пика, %
<i>o</i> -Фталевая кислота, триметилсилил	17.746	96.8	16.61
Бутил – тетрадецилфталат	19.436	12.5	7.84
н-Дибутылфталат	20.402	31.8	100
N-фенил-2-нафтиламин	23.014	44.8	27.71
Ди(2-этилгексил)фталат	25.453	10.8	24.34

Таблица 2. Содержание фталатов в участках корней и в эпикотилиях проростков гороха, выросших на воде (контроль) и на 10^{-4} М растворе нафталина, мкмоль/г сырой массы отрезка

Вариант	Вид фталата	Участок корня					Эпикотиль
		I	II	III	IV	V	
Контроль (вода)	Диэтилфталат	0.377 ± 0.011	0.274 ± 0.034	0.076 ± 0.008	0.200 ± 0.023	0.174 ± 0.020	0.158 ± 0.016
	Дибутилфталат	0.084 ± 0.012	0.083 ± 0.014	0.057 ± 0.009	0.057 ± 0.007	0.048 ± 0.006	0.005 ± 0.001
	Ди(2-этилгексил)-фталат	5.648 ± 0.624	2.872 ± 0.311	1.973 ± 0.232	2.098 ± 0.198	0.872 ± 0.094	0.266 ± 0.032
10^{-4} М нафталин	Диэтилфталат	0.477 ± 0.055	0.236 ± 0.031	0.109 ± 0.016	0.372 ± 0.046	0.189 ± 0.021	0.195 ± 0.023
	Дибутилфталат	0.260 ± 0.034	0.168 ± 0.021	0.096 ± 0.011	0.045 ± 0.006	0.065 ± 0.008	0.045 ± 0.004
	Ди(2-этилгексил)-фталат	8.235 ± 0.864	5.078 ± 0.623	3.153 ± 0.342	1.394 ± 0.186	0.456 ± 0.066	1.867 ± 0.211

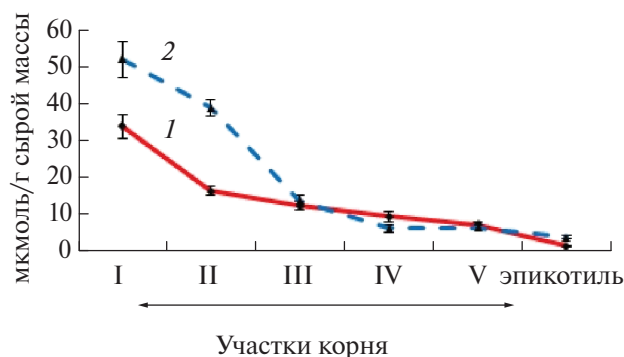


Рис. 2. Влияние нафталина (10^{-4} М) на содержание N-ФНА в различных участках корней и эпикотилей проростков гороха: 1 – контрольные растения (рост на воде); 2 – рост на 10^{-4} М нафталине. По оси ординат: N-ФНА, мкмоль/г сырой массы.

шие к растяжению. На участке III на расстоянии 7–20 мм клетки находятся на этапе завершения роста растяжением и начала дифференцировки. На поверхности этой зоны растущие корневые волоски способны реагировать искривлениями при присоединении к ним ризобий [29]. Участок IV, на расстоянии 20–25 мм – зона дифференцированных клеток, на поверхности которых находятся зрелые корневые волоски. Участок V, 5-миллиметровой длины и расположенный на границе с эпикотилем, входит в гипокотильную часть корня, выполняющую транспортную функцию между корнем и надземной частью проростков [32].

При анализе данных табл. 2 и рис. 2 можно констатировать, что в корнях N-ФНА и фталаты большей частью сконцентрированы в меристема-

тической зоне (участок I) и несколько меньше – в зоне, где активно осуществляется рост клеток растяжением (участок II). Здесь же при действии нафталина возрастало содержание N-ФНА и фталатов. Из этого следует, что биосинтез N-ФНА и фталатов в основном осуществлялся в клетках обсуждаемых участков апикальной растущей области корня. Возможно, аналогичные процессы происходили и в продолжающих рост растяжением клетках участка III, поскольку при действии нафталина в этой зоне наблюдалось небольшое повышение суммарного содержания фталатов (табл. 2). Наряду с обсуждавшимися выше показателями для каллусов, еще одним свидетельством биосинтеза исследуемых соединений в растущих клетках могут служить и данные для эпикотилей, содержащих меристематические и растягивающиеся клетки, где их концентрация повышалась под влиянием нафталина (табл. 2, рис. 2).

Под влиянием нафталина в участках IV и V корня с дифференцированными клетками содержание N-ФНА и суммарное содержание фталатов не повышалось (табл. 2, рис. 2). Концентрация N-ФНА в участке IV оказалась даже ниже, чем в контроле, а сумма фталатов снизилась в обоих обсуждаемых участках и особенно в гипокотильной части корня (табл. 2, рис. 2). Возможны две причины отсутствия здесь положительной реакции клеток на действие нафталина. Во-первых, участие данного предшественника в биосинтезе исследуемых соединений может лимитировать низкая проницаемость его через клеточные стенки у клеток этих дифференцированных участков корня с утолщенными и лигнифицированными клеточными оболочками. Во-вторых, возможно отсутствие в клетках

этих участков биосинтеза изучаемых соединений *de novo*, а их наличие здесь является следствием перемещения из апикальной части корня либо из эпикотилия, где происходило увеличение их содержания под влиянием нафталина, вероятного предшественника их биосинтеза.

Высоколипофильные N-ФНА и фталаты могут накапливаться в мембранных структурах [23, 25, 26]. Вероятно, N-ФНА может транспортироваться в растениях путями, аналогичными для фталатов, – по апопласту, симпласту и трансмембранным путям, а также по сосудистой системе [3]. N-ФНА и фталаты способны проникать во внешнюю среду через мембраны клеток, о чем свидетельствовали данные об их выходе из тканей корня в корневые экссудаты растений гороха, где они к тому же доминировали среди ароматических соединений [31]. Полагаем, что более низкое, в сравнении с зоной меристемы, содержание N-ФНА и фталатов в участках II и III (табл. 2, рис. 2.), входящих в зону экссудации и адгезии [29], обусловлено их выходом из клеток в ризосферу корня.

Итак, резюмируя приведенные выше результаты для клеток каллуса, можно дать положительный ответ на вопрос о существовании в клетках метаболических систем для независимого от эндофитных микроорганизмов биосинтеза N-ФНА и фталатов. Использование в экспериментах экзогенного нафталина в концентрации, не вызывавшей существенных изменений в росте корней проростков гороха [12], позволило определить у этих проростков вероятные локусы биосинтеза N-ФНА и фталатов. Показано, что таковыми являются участки корня и эпикотиль, где осуществляются ростовые процессы. Использование клетками нафталина в качестве предшественника исследуемых негативных аллелопатических соединений, N-ФНА и фталатов, указывает на способность бобовых растений метаболизировать ПАУ. Вспомогательную роль при этом могут выполнять эндофитные бактерии растений гороха, в частности, обнаруживающие способности к деградации нафталиновой группировки у N-ФНА до фталатов [24]. Возможность метаболизирования ПАУ совместно с эндогенными бактериями, вероятно, способствует адаптации бобовых культур на почвах, загрязненных ПАУ, и снижению содержания этих поллютантов во внешней среде. Особенности бобовых культур могут использоваться для ремедиации почв, загрязненных ПАУ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России для Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Рос-

сийской академии наук (Рег. № НИОКТР – 122041100050-6).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brack W., Altenburger R., Ensenbach U., Möder M., Segner H., Schüürmann G.* // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1999. V. 37. № 2. P. 164–174. <https://doi.org/10.1007/s002449900502.2>
2. *Altenburger R., Brak W., Greco W.R., Groot M., Jung K., Ovari A. et al.* // Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. P. 6163–6169. <https://doi.org/10.1021/es060338e>
3. *Sharma R., Kaur R.* // Environ. Sustain. 2020. V. 3. P. 391–404. <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00141-x>
4. *Sultankhodzhaev M.N., Tadzhibaev M.M.* // Chem Nat Compd. 1976. V. 12. P. 361. <https://doi.org/10.1007/BF005678365>
5. *Evstratova R.I., Zapesochnaya G.G.* // Chem Nat Compd. 1977. V. 13. P. 488. <https://doi.org/10.1007/BF005658566>
6. *Zhanaeva, T.A., Krivoshchekova, O.E., Semenov, A.A., Minaeva V.G.* // Chem Nat Compd. 1989. V. 25. P. 377. <https://doi.org/10.1007/BF00597731>
7. *Wu Z.B., Zhang S.H., Wu X.H., Cheng S.P., He F.* // Allelopathy Journal. 2007. V. 20. № 2. P. 327–338.
8. *Pei Y., Liu L., Hilt S., Xu R., Wang B., Li C., Chang X.* // Hydrobiologia. 2018. V. 823. P. 67–77. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3696-7>
9. *Yu R., Li B.G., Ye Q., Zhang G.L.* // Nat Prod Res. 2005. V. 19. № 4. P. 359–362. <https://doi.org/10.1080/14786410412331280104>
10. *Makarova L.E., Smirnov V.I., Klyba L.V., Petrova I. G., Dudareva L.V.* // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. V. 48. № 4. P. 355–362. <https://doi.org/10.1134/S0003683812030064>
11. *Макарова Л.Е., Мориц А.С., Соколова Н.А., Петрова И.Г., Семенов А.А., Дударева Л.В. и др.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2020. Т. 56. № 2. С. 165–173. <https://doi.org/10.31857/S0555109920010122>
12. *Макарова Л.Е., Ищенко А.А., Бизиков П.А., Петрова И.Г., Копытина Т.В.* // Химия растительного сырья. 2023. № 1. С. 127–133. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230111760>
13. *Еникеев А.Г., Семенов А.А., Пермьяков А.В., Соколова Н.А., Гамбург К.З., Дударева Л.В.* // Прикл.

- биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 3. С. 282–285.
<https://doi.org/10.1134/S0555109919020065>
14. *Semenov A.A., Enikeev A.G., Babenko T.A., Shafikova T.N., Gorshkov A.G.* // Theoretical and Applied Ecology. 2021. № 1. P. 16–21.
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-1-016-021>
 15. *Krishnan S., Prabhu Y., Phale P.S.* // Indian J. Biochem. Biophys. 2004. V. 41. P. 227–232.
 16. *Iwabuchi T., Harayama S.* // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 8332–8336.
<https://doi.org/10.1074/jbc.273.14.8332>
 17. *Seo J.S., Keum Y.-S., Li Q.X.* // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2009. V. 6. P. 278–309.
<https://doi.org/10.3390/ijerph6010278>
 18. *Vamsee-Krishna C., Phale P.S.* // Indian J. Microbiol. 2008 V. 48(1) P. 19–34.
<https://doi.org/10.1007/s12088-008-0003-8>
 19. *Tian C.K., Ni J.R., Chang F., Liu S.T., Xu N., Sun W.L., et al.* // Scientific Reports. 2016. V. 6. 19791.
<https://doi.org/10.1038/srep19791>
 20. *Huang L., Zhu X., Zhou S., Cheng Z., Shi K., Zhang C., Shao H.* // Toxins. 2021. V. 7. P. 495.
<https://doi.org/10.3390/toxins13070495>
 21. *Chen C.Y.* // Water research. 2004. V. 38. P. 1014–1018.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.11.02922>
 22. *Namikoshi M., Fujiwara T., Nishikawa T., Ukai K.* // Marine Drugs. 2006. № 4. P. 290–297.
<http://doi.org/10.3390/md404290>
 23. *Sun J., Wu X., Gan J.* // Environ. Sci. Technol. 2015. V. 49. P. 8471–8478.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01233>
 24. *Макарова Л.Е., Маркова Ю.А., Мориц А.С., Карпова М.С., Сидоров А.В., Соколова Н.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2021. Т. 57. № 4. С. 394–401.
<https://doi.org/10.31857/S0555109921040103>
 25. *Qian H., Xu X., Chen W., Jiang H., Jin Yu., Liu W., Fu Z.* // Chemosphere. 2009. V. 75. P. 368–375.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.04026>
 26. *Liu R., Ran X., Bai F., Xu J., Yang S., Shi J., Wu Z.* // Phycologia. 2015. V. 54. № 1. P. 12–19.
<https://doi.org/10.2216/14-05.1>
 27. *Qian H., Yu S., Sun Z., Xie X., Liu W., Fu Z.* // Aquatic Toxicology. 2010. V. 99. № 3. P. 405–412.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.05.018>
 28. *Акимова Г.П., Соколова М.Г., Нечаева Л.В.* // Физиология растений. 1999. Т. 46. № 5. С. 806–810.
 29. *Макарова Л.Е., Нурминский В.Н.* // Цитология. 2005. № 6. С. 519–525.
 30. *Makarova L.E., Akimova G.P., Ischenko A.A., Bizikov P.A., Kopytina T.V.* // Appl. Biochem. Microbiol. 2023. V. 59. № 1. P. 65–72.
<https://doi.org/10.1134/S0003683823010040>
 31. *Макарова Л.Е., Дударева Л.В., Петрова И.Г., Васильева Г.Г.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 2. С. 306–311.
<https://doi.org/10.7868/S0555109916020094>
 32. *Эзау К.* Анатомия семенных растений. ч. 1. М.: Мир, 1980. 218 с.

Study of Localization of Endogenous N-Phenyl-2-Naphthylamine and Phthalates in Pea Seedlings (*Pisum sativum* L.)

L. E. Makarova^{a,*}, A. G. Enikeev^a, P. A. Bizikov^a, A. A. Ishchenko^a, I. G. Petrova^a,
 N. A. Sokolova^a, and I. S. Kapustina^a

^a*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664033 Russia*

*e-mail: makarova@sifibr.irk.ru

The content of negative allelopathic substances, N-phenyl-2-naphthylamine (N-PNA) and phthalates, was studied in morphologically and physiologically different root sites, in the epicotile of etiolated pea seedlings (*Pisum sativum* L.) and in the callus obtained from their epicotiles. The detection of N-PNA, o-phthalic acid, and phthalates in callus cells is evidence of the independent biosynthesis of these compounds in pea plant cells. Based on the changes in the content of N-PNA and phthalates caused by 10⁻⁴M naphthalene, it was shown that the main loci of biosynthesis of these compounds in pea seedlings include the growing apical part of the root and the epicotyle. It has been suggested that legumes, characterized by the ability to metabolize these substances with the participation of endophytic bacteria capable of degrading PAHs, can be used for remediation of soils contaminated with PAH pollutants.

Keywords: endogenous N-phenyl-2-naphthylamine (N-PNA), phthalates, naphthalene, pea seedling, root, epicotyl, callus