

## ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ КОРНЕЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

В. А. Лукашевич, В. В. Самохина, В. С. Мацкевич

Растения постоянно подвергаются влиянию стрессовых факторов, таких как засоление, засуха, воздействие тяжелых металлов. Торможение роста является одним из самых важных и наиболее легко регистрируемых проявлений токсичности тяжелых металлов в отношении растений [1]. В многочисленных лабораторных и полевых опытах с разными видами (сортами, генотипами) показано, что под влиянием тяжелых металлов у растений уменьшаются линейные размеры корней и побегов, снижается накопление биомассы. Наибольшее число исследований в этом направлении посвящено действию на растения кадмия, как одного из наиболее токсичных тяжелых металлов, в несколько меньшей степени изучены металлы-микроэлементы, такие как медь и никель [1]. Негативное влияние переходных металлов опосредовано высокоаффинным связыванием с важнейшими органическими лигандами биополимеров клетки и генерацией активных форм кислорода (АФК), таких как гидроксильные радикалы и др., в ходе реакции Габер-Вейса [2]. Сигнально-регуляторная роль АФК может быть обусловлена их влиянием на катионные каналы, в частности,  $K^+$ -каналы выходящего направления, которые активируются при деполяризации мембраны [3].

Цель работы – установить влияние ионов меди и никеля на рост корней арабидопсиса. Объектом исследования служили 5-дневные проростки *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh экотипа Wassilewskija (WS-0, «Wild Type»), а также *gork1-1* (отсутствует ген, кодирующий наружу-выпрямляющий  $K^+$ -канал). Культура целых растений выращивалась вертикально из семян на чашках Петри. Среда выращивания содержала стандартную смесь солей Мурашиге и Скуга (0,35 % фитогеля, 1 % сахарозы, рН 6,0). На пятые сутки чашки Петри с растениями подвергались замене среды на аналогичную с добавлением одного из стрессоров ( $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) в различных концентрациях. После замены питательной среды производилось ежедневное измерение прироста длины корня в 30 растениях для каждой концентрации и в контроле на протяжении 6 сут. Для обработки полученных результатов использовались стандартные методы вариационной статистики. Вычислялись средняя арифметическая величина и ошибка средней величины. Для расчета достоверности отличий между группами величин производился анализ на основе ANOVA-теста.

Для выявления действия тяжелых металлов на рост главного корня арабидопсиса нами был протестирован широкий диапазон концентраций

(0,1–1000  $\mu\text{M}$ ) хлорида никеля и хлорида меди. Ростовые тесты показали, что характер действия меди и никеля на прирост корня изменялся в зависимости от концентрации данных металлов в среде (рисунок 1). Низкие концентрации оказывали стимулирующее действие, а высокое содержание металлов в среде ингибировало рост корней. При этом, стимулирующий эффект у мутанта *gork 1-1*, у которого отсутствует наружу-выпрямляющий  $\text{K}^+$ -канал, был выражен сильнее, чем у дикого типа.

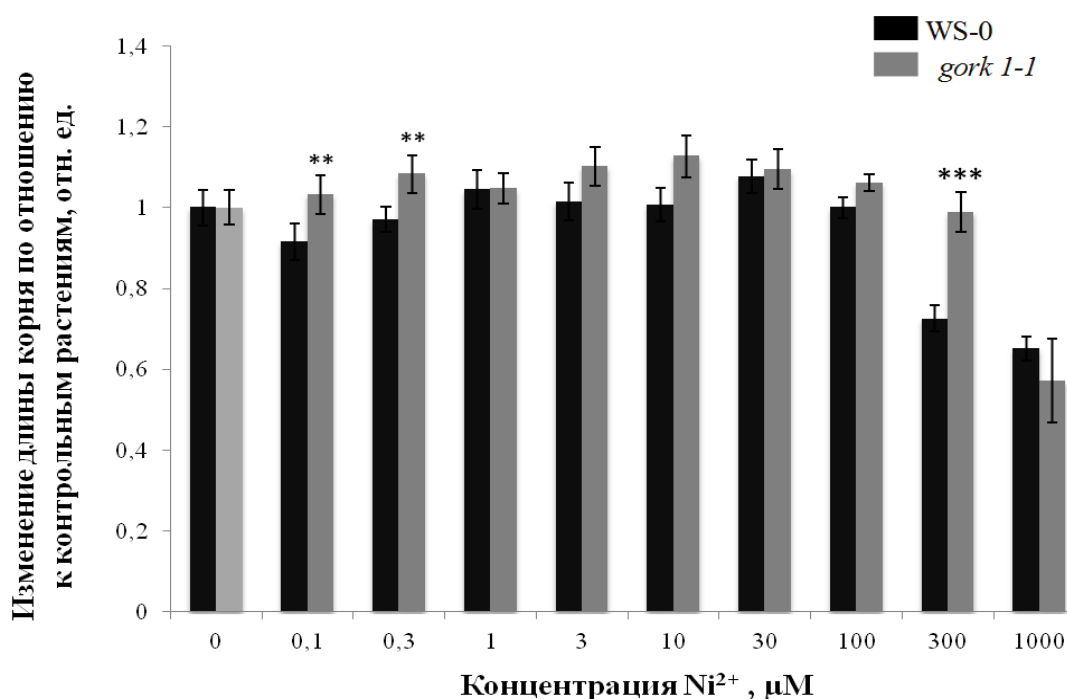


Рис. 1. Относительные изменения длины корня арабидопсиса, вызываемые различными концентрациями ионов никеля у растений дикого типа (WS-0) и мутантов *gork 1-1*: \*\* -  $p < 0,001$ , \*\*\* -  $p < 0,0001$  ( $n=30$ )

Прирост главного корня при содержании в среде 0,1  $\mu\text{M}$  и 0,3  $\mu\text{M}$   $\text{Ni}^{2+}$  был на 20 % больше у *gork 1-1* по сравнению с диким типом (рисунок 1). Ингибирующее действие  $\text{Ni}^{2+}$  наблюдалось в концентрациях свыше 300  $\mu\text{M}$  у дикого типа, в то время как *gork 1-1* был не чувствителен к данной концентрации (рисунок 1). Для мутантной линии эффект ингибирования роста начинался лишь с 1 мМ  $\text{Ni}^{2+}$ .

В отличие от  $\text{Ni}^{2+}$  добавление в среду небольших концентраций  $\text{Cu}^{2+}$  (0,1–30  $\mu\text{M}$ ) не влияло на рост корней арабидопсиса как дикого типа, так и *gork 1-1*. Начиная с концентрации 100  $\mu\text{M}$ , наблюдалось ингибирование роста корней арабидопсиса дикого типа. Растения *gork 1-1*, у которого отсутствует наружу-выпрямляющий калиевый канал GORK, проявляли более высокую устойчивость к избыточным концентрациям  $\text{Cu}^{2+}$  в среде, поскольку ингибирующий эффект регистрировался при действии 300  $\mu\text{M}$   $\text{Cu}^{2+}$ .

Таким образом, в невысоких концентрациях ионы никеля способны оказывать на рост корней *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh стимулирующий эффект, тогда как более высокие дозы вызывают ингибирующий эффект, усиливающийся по мере возрастания действующей концентрации. Растения арабидопсиса *gork 1-1*, у которых отсутствует ген, кодирующий наружу-выпрямляющий  $K^+$ -канал, оказались более устойчивы к воздействию тяжелых металлов – никелю и меди.

#### Литература

1. *Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В.* Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014.
2. *Koppenol, W.H.* The Haber-Weiss cycle – 70 years later // *Redox reports*. 2001. Vol. 6. P. 229–234.
3. *Dreyer, I [et al.]* Potassium channels in plant cells // *The Federation of European Biochemical Societies Journal*. 2011. Vol. 278. P. 4293–4303.

### **РОЛЬ $K^+$ -КАНАЛОВ GORK В СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМОМ ВЫХОДЕ $K^+$ ИЗ КЛЕТОК КОРНЯ: АНАЛИЗ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА МЕЧЕННЫХ АТОМОВ**

**А. С. Мацкевич, В. В. Самохина, В. С. Мацкевич**

Известно, что общий уровень метаболизма в клетке в большой степени регулируется цитоплазматической концентрацией калия. Именно снижение уровня калия приводит к торможению метаболизма, а в случае продолжающегося воздействия стресс-фактора запускается запрограммированная клеточная гибель. Таким образом, пораженная (например, атакой патогена) клетка гибнет, а весь растительный организм остается живым. Быстрое снижение уровня калия возможно в результате его выхода из клетки в результате активации соответствующих ионных каналов [1].

К повреждающим агентам относятся активные формы кислорода (АФК), которые продуцируются в ответ на стресс факторы. Нужно отметить, что с одной стороны АФК продуцируются как нормальный продукт растительного клеточного метаболизма, они являются хорошо описанными вторичными посредниками в различных клеточных процессах, в том числе в обеспечении толерантности к стресс-факторам окружающей среды. Однако, рассматривая их с другой стороны, при чрезмерной продукции АФК наблюдается интенсивные окислительные повреждения и, в конечном счете, гибель клеток.

Существуют подтвержденные литературные данные которые говорят о том, что синтез АФК сопровождается активацией наружу-выпрям-