

срезанных листьях ячменя в присутствии β -АМК увеличился выход аскорбата в апопласт, где он окислялся, и этому способствовало показанное нами защелачивание апопласта в результате действия β -АМК.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПРИРОДА ВЫХОДА ИОНОВ КАЛИЯ ИЗ КЛЕТОК КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССЕ

Самохина В.В., Мацкевич В.С., Соколик А.И., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Окислительный стресс возникает в растительной клетке в результате практически любых неблагоприятных воздействий. Засоление, механический стресс, засуха, гипоксия и другие стресс-факторы среды индуцируют дисбаланс производства и детоксификации активных форм кислорода (АФК) [1]. Одновременно, с синтезом АФК у растений наблюдается выход из клеток ионов калия (K^+), который является основным ионом, ответственным за генерацию и поддержание разности электрических потенциалов на плазматической мембране клетки, регулятором ростовых и анаболических процессов. Сигнально-регуляторная роль АФК может быть обусловлена их влиянием на катионные каналы, в частности, K^+ -проницаемые каналы [2]. Целью работы была выявление закономерностей воздействия высоких уровней NaCl, гидроксильного радикала и H_2O_2 на кинетику выхода K^+ ($^{86}Rb^+$) из корней арабидопсиса.

В работе был использован $^{86}Rb^+$ в форме хлорида (POLATOM; Польша). Объектом исследования являлись корни проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh 'WS-0', а также нокаутные мутанты *gork1-1*, лишенные гена GORK, кодирующего наружу выпрямляющий K^+ -канал. Культура целых растений выращивалась вертикально из семян на чашках Петри (100% среды Мурашиге и Скуга, 0,25% фитогеля, 1% сахарозы, pH 6). Накопленная активность проростков измерялась при помощи β -радиометра, имеющего детектор размером 5×7 см. Проростки закреплялись в специальных держателях и погружались в раствор следующего состава (ммоль/л): 0,1 KCl, 0,1 CaCl₂, pH 6,0, 2 Трис /4 Мес, содержащий ^{86}Rb . Через 30 мин загруженные ^{86}Rb проростки извлекались из раствора и помещались в такой же раствор, но без изотопа. Через определенные интервалы времени проростки извлекались из раствора, ополаскивались и помещались на подставку, покрытую фильтровальной бумагой, для помещения в измерительный отсек β -радиометра. Через 5 мин с начала регистрации выхода $^{86}Rb^+$

растения обрабатывались стрессорами: 1) 200 ммоль/л NaCl; 2) 1 ммоль/л Cu^{2+} , 1 ммоль/л L-аскорбиновая кислота, 1 ммоль/л H_2O_2 (Cu/a); 3) 10 ммоль/л H_2O_2 . По окончании эксперимента измерялась масса тестируемых корней и производилось вычисление удельной активности.

Анализ временного хода выходящего потока ^{86}Rb продемонстрировал наличие в нем 3 фаз (Рис. 1): 1) быстрая фаза (5 мин); 2) начальная медленная фаза (5-10 мин); 3) конечная медленная фаза (10-25 мин). Первая фаза соответствует выходу ^{86}Rb из клеточной стенки (апопласт). Две медленные фазы связаны с выходом изотоба из клеток (симпласт).

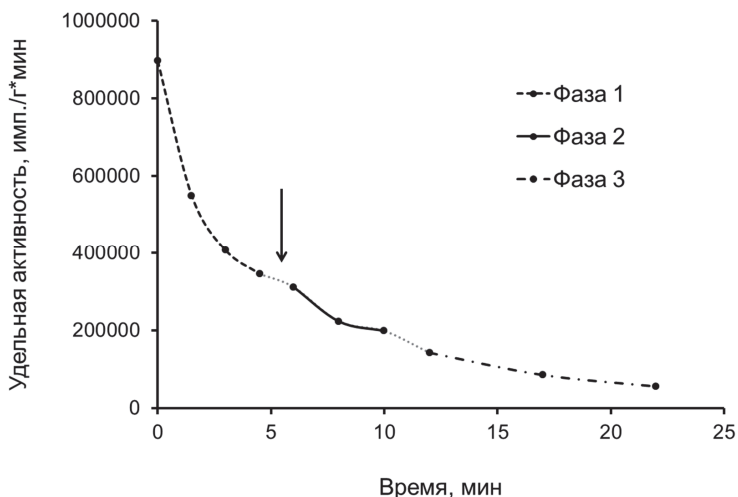


Рис. 1. Типичная кривая временного хода выхода $^{86}\text{Rb}^+$ из корней арабидопсиса под действием NaCl. Стрелкой обозначено время добавления стресс-растворов

Для 2 фазы, включающей в себя выход из цитоплазмы, были рассчитаны скорости выхода $^{86}\text{Rb}^+$ в условиях обработок стрессорами и получены их соотношения к значениям скорости выхода в контрольных условиях. У растений дикого типа выход $^{86}\text{Rb}^+$ ускорялся под действием NaCl в 5 раз, Cu/a в 3 раза, H_2O_2 в 2,5 раза (Рис. 2). Скорость стресс-индуцируемого выхода $^{86}\text{Rb}^+$ была в 2 раза ниже у нокаутных по K^+ -каналу растений *gork 1-1*.

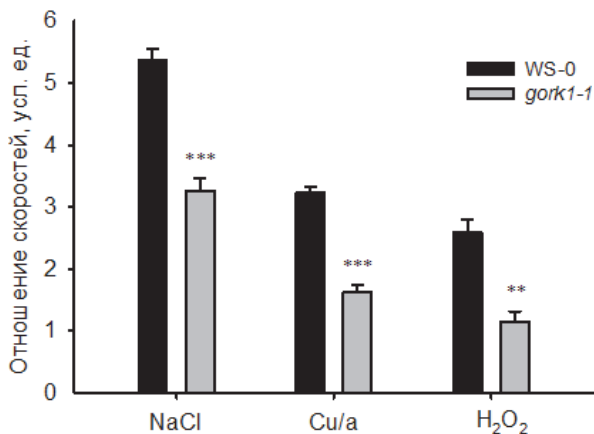


Рис. 2. Отношение скорости выхода $^{86}\text{Rb}^+$ под действием стрессора к скорости его выхода в контрольных условиях. Достоверность различий (сравн. с контролем): * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,001$, *** - $p < 0,0001$ ($n=10$).

В результате анализа полученных данных можно сделать следующие выводы: 1) обработка NaCl, гидроксильными радикалами и H_2O_2 стимулирует выход $^{86}\text{Rb}^+$ из клеток корня арабидопсиса; 2) K^+ -канал GORK принимает участие в индуцируемом стрессорами выходе калия из корней арабидопсиса, так как нокаутные растения по данной транспортной системе демонстрируют более медленную кинетику выхода $^{86}\text{Rb}^+$.

Литература

1. Демидчик В.В. Оксидативный стресс и ионные каналы растений / В.В. Демидчик // Клеточная биология и биотехнология растений: тез. докл. международной научн.-практ. конф., 13-15 февраля 2013 г., Минск, Беларусь. – Минск: Изд. Центр БГУ, 2013. – С. 59.
2. Demidchik V. [et al.] Arabidopsis root K^+ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death / V. Demidchik [et al.] // Journal of Cell Science. – 2010. – Vol.123, № 9. – P. 1468–1479.