

6. Филиппова Г.Г., Варакса Т.С., Соколов Ю.А., Юрин В.М. Действие пептидного элиситора GmPer890 на физиолого-биохимические показатели проростков сои // Труды БГУ. –2015. –С. 75-81.

РАЗВИТИЕ СИМПТОМОВ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КЛЕТКАХ КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПОЛИАМИНОВ

Чичко А.А., Мацкевич В.С., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Ключевым триггером запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ) у высших растений является повышенная концентрация активных форм кислорода (АФК), генерация которых стимулируется в ответ на стрессовые воздействия различной природы [1]. Ключевыми стресс-протекторными агентами растений являются полиамины - низкомолекулярные водорастворимые алифатические соединения, содержащих две или более первичных аминогрупп ($\text{NH}_2\text{-R-NH}_2$). Повышение уровня полиаминов в тканях высших растений происходит в ответ на практически любые абиотические стрессовые воздействия. Наибольшее распространение и физиологическое значение в растениях имеют путресцин (диамин), спермидин (триамин) и спермин (тетрамин) [2]. Механизм влияния полиаминов на растения остается малоизученным. Некоторые литературные данные указывают на ослабление признаков окислительного стресса при сверхэкспрессии ферментов биосинтеза полиаминов. В то же время, полиамины выступают субстратом для полиамин-оксидазы, продуцирующей АФК в апопласте. Вероятнее всего, про- или антиоксидантная направленность влияния полиаминов зависит от конкретных физиологических условий и особенностей стрессовых воздействий. В этой связи, представлялось актуальным протестировать влияние экзогенных полиаминов на уровень ЗКГ в тканях модельной растительной системы. Целью настоящей работы являлось выявление особенностей развития морфологических симптомов ЗКГ в клетках корня высших растений при воздействии основных природных полиаминов (спермина, спермидина, путресцина).

В экспериментах использовались корни 5-7-дневных проростков арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* L. Heynh экотипа WS-0 (Wassilewskija). Культура целых растений выращивалась вертикально из семян на чашках Петри (100% среды Мурашиге и Скуга, 0,25% фитогеля, 1% сахарозы, pH

б) с использованием стандартных протоколов [1]. В работе использовались сертифицированные полиамины (спермин, спермидин, путресцин) (Sigma; США), а также антиоксиданты: 0,3 % диметилсульфоксид (ДМСО), 1 ммоль/л тиомочевина и антиоксидантные ферменты: 600 ед/мл супероксиддисмутаза (СОД), 1000 ед/мл каталаза. Использовался инвертированный флуоресцентный микроскоп Nikon Eclipse TS100F и приложения среды NIS Elements Imaging Software (Nikon, США). Для выявления развития морфологических симптомов ЗКГ отбиралось 10-15 выборок по 50 клеток отдельно для трихобластов и атрихобластов. Тест на генерацию АФК (супероксида) осуществлялся с помощью флуоресцентного зонда диигидроэтидиума (10^{-6} моль/л; Sigma, США) [3].

В контрольных условиях доля клеток с симптомами ЗКГ составляла не более 10% (рис. 1).

Доля корневых волосков с симптомами ЗКГ начинала увеличиваться при введении 30 мкмоль/л спермина, 100 мкмоль/л спермидина и путресцина (рис. 1). Аналогичная тенденция была отмечена для атрихобластов. Для фармакологических тестов была использована концентрация 0,3 ммоль/л, которая достоверно увеличивала долю клеток с симптомами ЗКГ при обработке полиаминами в 5-8 раз.

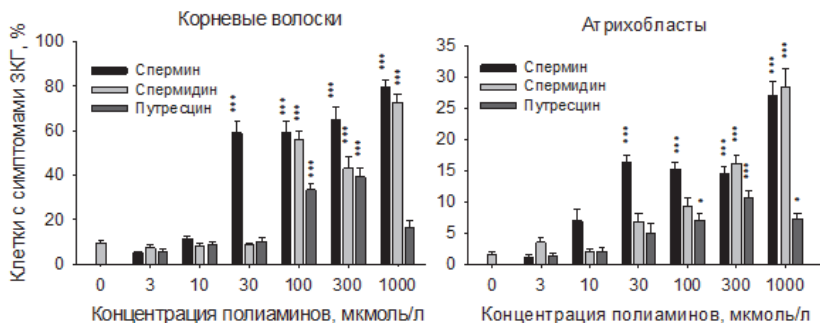


Рисунок 1 – Влияние различных уровней полиаминов на долю клеток с симптомами ЗКГ (корень *Arabidopsis thaliana*, обработка: 15 ч)

Достоверность различий (сравн. с контролем): * - $p < 0,01$,

** - $p < 0,001$, *** - $p < 0,0001$.

Добавление в тест-растворы антиоксидантных агентов подавляло развитие ЗКГ, вызываемое 0,3 ммоль/л путресцина, но не изменяло харак-

тера влияния спермина. Эффект спермидина на ЗКГ был наиболее чувствителен к СОД и ДМСО. Доля клеток с симптомами спермидин-индуцируемой ЗКГ снижалась в 2-3 раза (Табл. 1).

Таблица 1 – Доля клеток с симптомами ЗКГ при обработке корней арабидопсиса полиаминами (в контроле и на фоне антиоксидантов)

Клетки с симптомами ЗКГ, %					
Корневые волоски		Контроль	Спермин	Спермидин	Путресцин
	Буфер	9,5±1,31	64,8±5,52***	42,9±5,40***	39,2±4,11***
	ДМСО	7,3±1,12	50,6±1,12***	21,9±2,55*a	7,6±1,27***a
	Тиомочевина	8,8±2,32	62,3±5,68***	31,6±5,37***	14,0±2,01***a
	Каталаза	8,1±1,24	77,3±3,64***	39,1±3,55***	6,2±1,22***a
	СОД	3,7±1,31	64,4±8,94***	11,1±3,50***a	1,8±1,08***a
Агрехобласти		Контроль	Спермин	Спермидин	Путресцин
	Буфер	1,7±0,41	14,5±1,07***	16,1±1,47***	10,7±1,24***
	ДМСО	5,0±1,90	19,9±1,47***	8,8±1,57	1,3±0,29***a
	Тиомочевина	3,6±1,34	24,7±2,01***,***a	11,6±1,99**	5,3±1,26
	Каталаза	5,9±1,65	41,0±3,31***,***a	23,6±3,06***	0,8±0,29***a
	СОД	1,5±0,50	29,8±1,89***,***a	10,0±1,89	0,6±0,62***a

Достоверность различий рассчитывали по отношению к контролю: *- $p < 0,01$, ** - $p < 0,001$, *** - $p < 0,0001$; к обработке полиаминами: *a - $p < 0,01$, ***a - $p < 0,0001$ ($n=15$).

Тесты с АФК-чувствительным зондом дигидроэтидиум показали что, 0,3 ммоль/л спермина стимулирует генерацию супероксида в клетках корня, спермидин не влияет на данный процесс, а путресцин его значительно ингибирует.

В результате анализа полученных данных можно сделать следующие выводы: 1) обработка полиаминами в концентрации выше 0,1 ммоль/л вызывает увеличение доли клеток с симптомами ЗКГ; 2) индуцируемая полиаминами ЗКГ подавляется антиоксидантами, наиболее сильно, под действием СОД и ДМСО; 3) спермин стимулирует генерацию супероксида в клетках корня арабидопсиса, при этом спермидин не влияет на данный процесс, а путресцин вызывает его ингибирование.

Литература

1. Polyamines control of cation transport across plant membranes: implications for ion homeostasis and abiotic stress signaling/ I. Pottosin [et al.] // Front Plant Sci. – 2014. – Vol. 5, № 154. – P. 1 – 16.

2. Arabidopsis root K^+ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death / V.V. Demidchik [et al.] // J. Cell Sci. – 2010. – Vol. 123, № 1. – P. 1468 – 1479.

ОДНОКОМПОНЕНТНОЕ И СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОТЕРМИИ И ЗАСОЛЕНИЯ НА ТРАНСПОРТ ПРОТОНОВ ИЗ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Яковец О.Г., Верчук А.Н.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В естественных условиях растения подвергаются влиянию не одного, а сразу нескольких неблагоприятных факторов окружающей среды. Ответная реакция растительного организма на совместное воздействие нескольких стрессоров может отличаться от ответной реакции на влияние одного из факторов. При этом предварительное действие одного стрессового фактора может повышать устойчивость растительного организма к последующему действию другого.

Засоление в настоящее время представляет собой экологическую проблему в рамках всей биосферы, так как для 25% почв планеты характерно избыточное содержание минеральных солей. Устойчивость растения к данному абиотическому стрессору связана, в первую очередь, с сохранением функциональной активности его корневой системы. Именно она представляет собой наиболее удобную модель для исследования перестроек, происходящих в растительном организме при засолении. Активная секреция протонов H^+ -АТФазами клеток корней (ацидофицирующая активность) представляет собой важный процесс для всех трансмембранных потоков в растениях. В связи с этим любые изменения, влияющие на работу данной системы, становятся пусковым механизмом в изменении метаболических процессов. Более того, работа H^+ -помпы очень тесно связана с формированием адаптации к действию неблагоприятных факторов окружающей среды, в частности, с явлением солеустойчивости растений [1]. Температурные воздействия могут оказывать как положительное (закаливающее), так и отрицательное влияние на растительный организм. Так как в естественных условиях факторы среды действуют одновременно, то целесообразно исследовать не только их однокомпонентное, но и совместное влияние.