

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-

ляющих K^+ -каналов, в частности канала GORK, через которые осуществляется потеря клеткой K^+ [2].

Скорость роста корней является важным физиологическим тестом, в котором проявляется баланс входа и выхода калия. Известно, что фаза роста растяжением обеспечивает значительную часть прироста длины корня, а именно в ходе этого процесса важно, чтобы скорость суммарного входа калия была велика. Замедление скорости роста корня, вызванное стресс-факторами, может быть обусловлено активацией наружу-выпрямляющих калиевых каналов, что приводит к снижению суммарного входа калия и замедлению роста. Следовательно, реакция скорости роста корня на воздействие стресс-факторов может быть показателем активности этих каналов.

Таким образом, цель работы – выявление эффектов абиотических стресс-факторов ($NaCl$, H_2O_2 , Cu/a) на рост корней и на параметры выхода ионов калия из корней арабидопсиса при помощи радиотрейсера $^{86}Rb^+$.

Объектом исследования были корни проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. природного экотипа *Wassilewskija* (WS-0), а также мутанты *gork1-1*, у которых отсутствует ген GORK, кодирующий основной 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) с использованием стандартных протоколов [3]. Активность проростков измеряли с использованием радиотрейсера $^{86}Rb^+$ в форме хлорида при помощи β -радиометра. В ходе опыта корни проростков, погружали в раствор следующего состава (мМ): 0,1 KCl , 0,1 $CaCl_2$, pH 6,0, доведенный 2 Tris / 4 MES, содержащий $^{86}Rb^+$. Через 30 мин загруженные $^{86}Rb^+$ проростки извлекали из радиоактивного раствора и помещали в тот же раствор без изотопа. Через определенные интервалы времени проростки извлекали из раствора, ополаскивали и помещали в счетчик. По истечении 5 мин эксперимента растения переносили в стресс-растворы (мМ): 200 $NaCl$; 1 Cu^{2+} /аскорбат/ H_2O_2 (Cu/a); 10 H_2O_2 . По окончании эксперимента определяли сырую массу корней, к которой относили измеренную активность.

Временной ход процесса выхода $^{86}Rb^+$ состоял из 3 фаз – быстрой (5 мин), и 2 медленных (5–10 мин; 11–22 мин). Первая соответствовала выходу $^{86}Rb^+$ из апопласта, вторая и третья – из симпласта. Ключевым этапом в транспорте ионов из симпласта является перенос веществ через плазматическую мембрану, поэтому в работе изучению подвергалась вторая фаза. Была проведена линеаризация зависимостей путем логарифмирования и определены скорости выхода $^{86}Rb^+$, как тангенс угла наклона участков соответствующей кривой. У арабидопсиса дикого типа

все 3 стрессора достоверно ускоряли выход $^{86}\text{Rb}^+$: NaCl в 5 раз, Cu/a в 3 раза, H_2O_2 в 2,5 раза. Отношения скоростей выхода $^{86}\text{Rb}^+$ при воздействии стрессоров у *gork 1-1* и WS-0 имели статистически значимые отличия. Стресс-индуцируемый выход $^{86}\text{Rb}^+$ у мутантных растений *gork 1-1* был в 2 раза меньше.

Также нами были проведены ростовые тесты с различными концентрациями NaCl, H_2O_2 , Cu/a. В случае H_2O_2 наблюдалось снижение скорости роста корней арабидопсиса всех изученных линий в концентрациях выше 1 мМ (рисунок 1). Проростки *gork 1-1* оказались более устойчивы к действию перекиси в концентрации 0,3 мМ по сравнению с диким типом. Это свидетельствует о вовлечении наружу-выпрямляющих K^+ -каналов GORK в стресс-ответ.

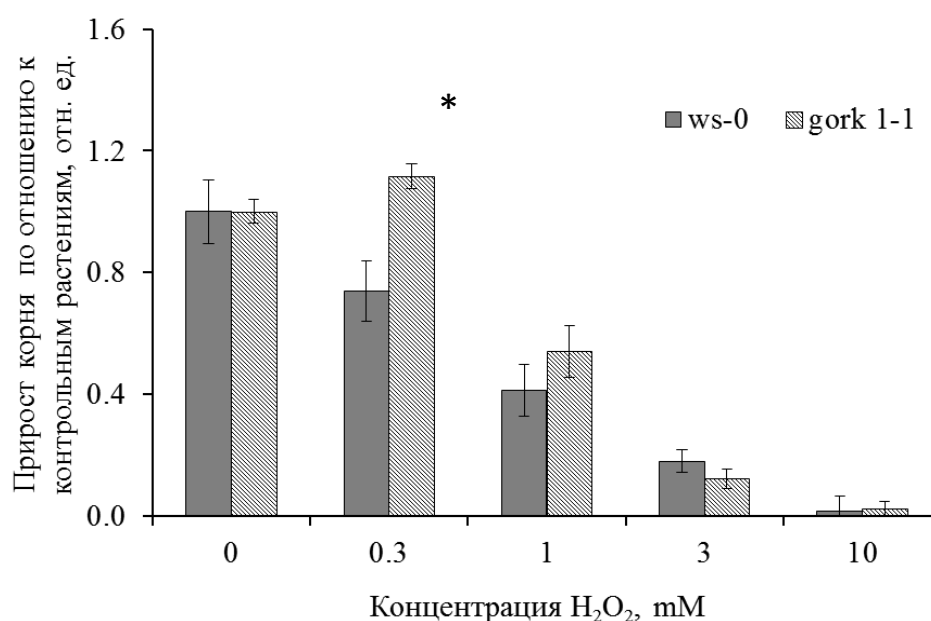


Рис. 1. Относительные изменения длины корня арабидопсиса, вызываемые различными концентрациями H_2O_2 у растений дикого типа (WS-0) и мутантов *gork 1-1*: * - $p < 0,01$ ($n=30$)

При обработке растений NaCl угнетение роста корня наблюдалось, начиная с концентрации 100 мМ. При этом нокаутные по K^+ -каналу растения *gork1-1* также демонстрировали меньшую чувствительность. Гидроксил-генерирующие смеси (Cu/a) имели еще более выраженный ингибирующий эффект, половинное ингибирование прироста главного корня наблюдалось при внесении 0,1 мМ Cu/a в среду. При этом обе линии арабидопсиса реагировали одинаково.

Таким образом, было показано, что при воздействии абиотических стресс-факторов наблюдается многократное увеличение скорости выхода ионов K^+ из корней арабидопсиса. При этом, как минимум половина стресс-индуцируемой потери ионов K^+ осуществляется через K^+ -каналы

GORK. Также нами было продемонстрировано, что торможение роста главного корня при добавлении стресс-растворов в питательную среду было более выражено у растений дикого типа, чем у растений *gork1-1*, лишенных функциональных наружу-выпрямляющих K^+ -каналов, что позволяет судить об участии данных каналов в стресс-ответе.

Литература

1. Demidchik V. Mechanisms and physiological roles of K^+ efflux from root cells // Journal of plant physiology. 2014. Vol. 171. № 9. P. 696–707.
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 // Journal of Cell Science. 2010. Vol.123. № 9. P. 1468–1479.
3. Самохина В. В. [и др.] Влияние гамма-излучения Cs-137 на рост корней растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа и линий, лишенных функционального калиевого канала GORK // Вестник БГУ. Серия 2. 2016. № 1. С. 36–40.

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕННОСТИ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИНОК ЛИП ЛИПОВОЙ МОЛЮ-ПЕСТРЯНКОЙ (*PHYLLONORYCTER ISSIKII* (KUMATA, 1963)) В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ БЕЛАРУСИ

Т. С. Пинчук, О. В. Синчук

ВВЕДЕНИЕ

Липа (*Tilia* L.) – род древесных растений семейства Malvaceae порядка Malvales, который объединяет 23 вида, произрастающих в умеренной зоне Евразии и Северной Америки [1–3]. Большинство видов являются характерным компонентом широколиственных лесов умеренного пояса. Липы помимо лесозаготовки культивируются во многих регионах мира в декоративных целях и являются хорошими медоносами [4].

В Беларуси род представлен целым рядом видов, наиболее распространенными из которых являются липы мелколистная (*Tilia cordata* Mill., 1768) и крупнолистная (*Tilia platyphyllos* Scop., 1772). Из представителей рода липа, произрастающих на территории страны, только *T. cordata* является аборигеном, принадлежа к числу лесообразующих пород [5]. Площадь липняков по данным Государственного лесного кадастра на 2015 г. составляла 4,2 тыс. га [6]. Липы широко используются в озеленении [7]: уличных, аллеиных и групповых посадках, пригодны для устройства высоких живых изгородей.

На липах в условиях Беларуси может развиваться целый ряд специализированных и многоядных форм фитофагов разных эколого-