

Phytophthora infestans, в ответ на действие мембрано-проникающего аналога цГМФ (2,5 мМ 8-бромо-цГМФ, инкубация в течение 2 ч) было осуществлено профилирование экспрессии генов с помощью микроэрейд-анализа с использованием ДНК-микрочипов («Agilent», США). В результате проведенного сравнительного анализа выявлены гены, уровень экспрессии которых изменяется в растениях обоих контрастных сортов. Также обнаружена группа генов, экспрессия которых повышается только в одном сорте и подавляется в другом, указывая на разную направленность изменения экспрессии определенного набора генов. Гены, экспрессия которых регулируется цГМФ, кодируют белки, участвующие в реализации следующих биологических процессов: ответ на стимулы, биологическая регуляция, организация и биогенез внутриклеточных структур, внутриклеточные процессы, процессы развития, транслокации, процессы метаболизма, апоптоз. Также под действием цГМФ изменяется экспрессия генов, участвующих в ответах на абиотические и биотические факторы, а также токсические агенты. Полученные результаты могут быть использованы при разработке приемов по управлению устойчивостью растений и их урожайностью. Выявленные сортовые отличия проанализированных растений могут выступать дополнительным критерием при отборе растений, устойчивых к патогенам.

Индукция цитоплазматических Ca^{2+} -сигналов и модификация ростовых процессов в корне *Arabidopsis thaliana* L. Neuh. под действием экзогенного аскорбата

Войтехович М.А.* , Гриусевич П.В., Новосельский И.Ю., Самохина В.В., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: makovitskayama@gmail.com

Л-аскорбиновая кислота (аскорбат) – важнейший антиоксидант растительной клетки, вовлеченный в цикл Фойер-Халливела-Асада и обеспечивающий детоксикацию H_2O_2 во всех клеточных компартментах за исключением апопласта. Аскорбат также представлен и во внеклеточном пространстве. Однако его роль в этом компартменте остается малоизученной. Концентрация аскорбата в апопласте (0,1-1 ммоль/л) значительно ниже, чем в цитоплазме (10-20 ммоль/л). Пероксидазные и оксидазные системы устраняют аскорбат из клеточной стенки, переводя его в форму дигидроаскорбата, который транспортируется внутрь клетки при помощи активных транспортеров. Ряд фактов свидетельствует о вовлечении аскорбата в генерацию гидроксильных радикалов в клеточной стенке в результате реакций со связанными в ней переходными металлами, в частности, Cu^{2+} и Fe^{3+} . Гипотетически это может приводить к активации Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов и входу ионов кальция в клетку. В настоящей работе мы приводим результаты тестирования данной гипотезы. В ходе проведенных опытов показано, что в корнях *Arabidopsis*, экзогенный аскорбат в концентрации выше 0,1 ммоль/л вызывает временное увеличение активности цитоплазматического Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_{цит.}$). Аскорбат-индуцируемые Ca^{2+} -сигналы имели волнообразную форму с одним пиком, достигая максимума в течение 1-5 мин в зависимости от тестируемой концентрации. Они подавлялись при введении в среду хелаторов меди и железа, что указывает на вовлечение свободнорадикальных процессов, катализируемых переходными металлами, в частности синтеза гидроксильных радикалов. Введение в среду

совместно с аскорбатом ионов меди и железа стимулировало аскорбат-индуцируемое повышение уровня Ca^{2+} , а добавление блокаторов Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов (La^{3+} и Gd^{3+}) вызывало его подавление. Значительный ингибирующий эффект также оказывала тиомочевина, которая способна снижать уровень генерации гидроксильных радикалов. В целом, проведенные эксперименты показали, что внеклеточный аскорбат может быть важным сигнальным агентом в корне высших растений, активируя вход Ca^{2+} в результате активации соответствующих катионных каналов плазматической мембраны. В ходе работы было также проведено исследование влияния экзогенного аскорбата на рост и архитектуру корней арабидопсиса с применением техники замены среды. Замена контрольной среды на аскорбат-содержащую, начиная с уровня 0,3 мМ аскорбата, подавляла рост основного корня и модифицировала такие параметры его архитектуры, как диаметр корня и длина клеток зоны растяжения.

Выходящий поток L-аскорбата из клеток корня *Arabidopsis thaliana* L. Heunh. опосредуется ALMT-подобными анионными каналами

Гриусевич П.В., Новосельский И.Ю., Войтехович М.А., Соколик А.И.,

Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchik@bsu.by

L-аскорбиновая кислота, присутствующая в клетках растений в виде одновалентного аниона - аскорбата, является важнейшим антиоксидантом, кофактором ряда ферментов, а также характеризуется прооксидантной активностью (при синтезе HO^{\bullet}). Гипотетически, экзогенный аскорбат может также использоваться клеткой в качестве сигнальной молекулы. Несмотря на важнейшие функции аскорбата в растении, механизмы его транспорта изучены крайне слабо. Термодинамически выход аскорбата может осуществляться системами пассивного ионного транспорта, такими как анионные каналы. Однако, проницаемость данной транспортной системы к аскорбату не изучена у высших растений. Целью нашей работы являлось тестирование потенциальных токов аскорбата в клетках корня высших растений через анион-проницаемые каналы плазматической мембраны. Эксперименты были проведены с использованием электрофизиологической техники пэтч-кламп в режиме «щелая клетка». Объектом исследования являлись протопласты, выделенные энзиматическим путем из клеток корня арабидопсиса. В результате проведенных исследований было показано, что в условиях доминирования аскорбата в качестве анионной составляющей внутриклеточной среды, регистрируется исключительно высокий уровень токов, ответственных за выход анионов. Это указывает на значительную проводимость анионных каналов плазматической мембраны клеток корня и потенциально других тканей высших растений к аскорбат-аниону. Аскорбатные токи были потенциал-независимы и демонстрировали высокую скорость активации, чем были похожи на ранее обнаруженные у многих высших растений токов анионных каналов семейства ALMT (aluminum-activated malate transporters). Добавление ингибиторов катионных каналов не приводило к изменению отрицательных токов плазматической мембраны, ответственных за выход аскорбата. При этом основной ингибитор анионных токов (антрацен-9-карбоновая кислота) плазматических мембран растений при введении его внутрь пэтч-пипетки полностью блокировал аскорбат-индуцируемую