

# ВОЗДЕЙСТВИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С ПЕРЕХОДНЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА СИСТЕМУ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ КЛЕТОК КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

**Войтехович М.А., Кулинкович А.В., Смолич И.И., Демидчик В.В.**

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Органические кислоты – наиболее обильные внутриклеточные метаболиты. Пути их синтеза и роль в биохимических превращениях хорошо изучена. Однако пока не ясна их функция в апопласте, куда они попадают в больших количествах в составе экссудатов. Недавно нами было установлено, что экзогенный аскорбат (L-аскорбиновая кислота), который известен как основной антиоксидант клетки, может выступать в качестве сигнально-регуляторного агента, запускающего  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализацию в случае его выброса в апопласт. При этом аскорбат вступает во взаимодействие с редокс-активными ионами меди и железа в клеточной стенке, генерируя гидроксильные радикалы, активирующие  $\text{Ca}^{2+}$ -проницаемые ионные каналы. Могут ли схожую реакцию запускать другие органические кислоты остается открытым вопросом. В этой связи целью настоящей работы было исследовать возможную редокс-зависимую активацию  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналов (временное повышение уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ ) в ответ на введение в наружную среду органических кислот и их комплексов с переходными металлами ( $\text{Cu}^{+2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+/3+}$  и  $\text{Mn}^{2+/3+}$ ).

В работе использовались интактные корни 7-12-дневных проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh., экспрессирующие экворин и  $\text{Ca}^{2+}$ -эквинометрия. Тестировалось влияние органических кислот (аскорбата, малата, цитрата и фумарата) в концентрациях 1-30 ммоль/л на  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  в клетках корня. В качестве положительного контроля использовалась обработка 1 ммоль/л аскорбата в буферном растворе с 10 ммоль/л  $\text{CaCl}_2$  (рН 6,0). Было показано, что данная обработка вызывает временное увеличение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  с пиком  $38,6 \pm 3$  нмоль/л. Аскорбат в концентрациях 10 и 30 ммоль/л вызывал увеличение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  на  $162 \pm 15$  нмоль/л и  $315 \pm 18$  нмоль/л соответственно. Аскорбат-индуцируемые  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналы имели волнообразную форму с одним пиком, достигая максимума в течение 3-5 мин в зависимости от тестируемой концентрации. Другие исследованные кислоты в концентрации 1 ммоль/л не вызывали подобной реакции. Однако, введение в среду 10 ммоль/л цитрата и фумарата индуцировало рост  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  на  $16,4 \pm 2$  нмоль/л и  $23,2 \pm 6$  нмоль/л соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации фумарата не приводило к росту  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ . При тестировании 30 ммоль/л цитрата отмечался рост  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  на  $110,5 \pm 14$  нмоль/л, а 30 ммоль/л малата на  $36,5 \pm 4$  нмоль/л. При добавлении металлов в концентрации 1 ммоль/л был обнаружен рост  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  на  $221,6 \pm 20$  нмоль/л (медь),  $18,0 \pm 3$  нмоль/л (железо) и  $19,7 \pm 2$  нмоль/л (марганец). Введение в среду совместно с аскорбатом ионов меди и железа в концентрации 1 ммоль/л стимулировало аскорбат-индуцируемое повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  до пиков  $673,0 \pm 40$  нмоль/л и  $242,2 \pm 20$  нмоль/л соответственно. Комплекс 1 ммоль/л марганец-аскорбат уменьшал  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  почти в 3 раза по сравнению с чистым аскорбатом. Комплекс 1 ммоль/л марганец-малат вызывал увеличение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  более чем в 3 раза по сравнению с чистым малатом. Остальные кислоты в комплексах с металлами не вызывали индукции  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналов, а в некоторых случаях выступали в роли ингибиторов этих сигналов. Например, 1 ммоль/л комплексы цитрат-медь и малат-медь снижали  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  чистой меди в 1,7 и 2,8 раза соответственно. Фумарат не вступал в редокс-реакцию ни с одним из протестированных металлов.