

РОЛЬ ИОННЫХ КАНАЛОВ CNGC В УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА К ДЕФИЦИТУ НЕЗАМЕНИМЫХ МЕТАЛЛОВ

М.С. Цыркунович

Белорусский государственный университет, г. Минск;

samokhina@bsu.by;

науч. рук. – В. В. Самохина

Микроэлементами для высших растений считаются шесть переходных металлов: медь (Cu), железо (Fe), марганец (Mn), молибден (Mo), никель (Ni) и цинк (Zn). В зависимости от количественного и качественного содержания этих металлов в почве, на которой они растут, растениям может потребоваться справиться либо с дефицитом металлов, либо с их токсичностью. Одним из путей поступления в клетку незаменимых металлов является пассивный транспорт через каналы, активирующиеся циклическими нуклеотидами (CNGC) – это неселективные катионные каналы, которые открываются после связывания с цГМФ и цАМФ. В данной работе была показана роль каналов CNGC в устойчивости растений арабидопсиса при недостатке меди и железа.

Ключевые слова: медь, железо, CNGC, корень, арабидопсис, ростовые тесты.

ВВЕДЕНИЕ

В растительном организме все процессы тесно взаимосвязаны. Исключение из питательной среды какого-либо необходимого элемента быстро вызывает изменение во многих, если не во всех, процессах метаболизма. В последнее время появляется все больше работ, посвященных металлам-микроэлементам (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn), которые необходимы в небольших концентрациях для жизнедеятельности растений [1, 2].

Медь является структурным элементом в регуляторных белках и участвует в фотосинтетическом переносе электронов, митохондриальном дыхании, реакциях окислительного стресса, метаболизме клеточной стенки и передаче сигнальных гормонов [1, 3]. Растениям требуются ионы меди в качестве основного микроэлемента для нормального роста и развития, поэтому ее дефицит вызывает у растений специфические симптомы, большинство из которых поражают молодые листья и репродуктивные органы. Железо входит в состав каталитических центров многих окислительно-восстановительных ферментов [1, 3], таких как цитохромоксидаза, нитратредуктаза, каталаза и др. Цитохромная система является необходимым компонентом дыхательной и фотосинтетической электрон-транспортной цепи. В силу этого при недостатке железа тормозятся оба этих важнейших процесса. Недостаток железа вызывает интенсивный хлороз листьев, в первую очередь молодых.

Одним из путей поступления в клетку незаменимых металлов является пассивный транспорт через каналы, активирующиеся циклическими нуклеотидами (CNGC)[4]. CNGC – это неселективные катионные каналы, которые открываются после связывания с цГМФ и цАМФ. Данные каналы расположены на плазматической мембране. Они экспрессируются в эпидермисе корней (CNGC1 и CNGC10) и листьев, где участвуют в восприятии и преобразовании сигналов окружающей среды. Роль CNGC у животных хорошо изучена и в геномах млекопитающих идентифицировано только шесть генов CNGC. В отличие от животных геном *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. кодирует 20 предполагаемых субъединиц CNGC. Хотя изучение растительных CNGC все еще находится в зачаточном состоянии, недавние исследования показали, что они выполняют ключевую роль в транспорте одно- и двухвалентных металлов. Таким образом, целью настоящей работы являлось установление роли каналов CNGC в устойчивости растений арабидопсиса при недостатке меди и железа в среде выращивания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. природного экотипа Col-0 и линий *cngc1* и *cngc10*, у которых отсутствуют гены, кодирующие каналы, активирующийся циклическими нуклеотидами CNGC1 и CNGC10 соответственно. Семена обрабатывались 15 мин 20% дезинфектантом Domestos, необходимым для стерилизации и улучшения смачивания поверхности семян. Перед посадкой семена промывались в стерильной деионизованной воде. Далее семена высаживались на поверхность твердой проавтоклавированной среды стерильными зубочистками в чашки Петри, на расстоянии 1,5 см от края и 1 см друг от друга (по 10-12 семян в каждой чашке). Растения выращивались в стерильной вертикальной культуре в чашках Петри на полной среде Мурасиге и Скуга, pH 6,0, 1% сахароза, 0,35 % Phytigel (контроль) в контролируемых условиях 22°C, 16 ч свет/ 8 ч темнота. В опытных вариантах использовался такой же вариант среды, исключая один из микроэлементов. Регистрация прироста основного корня производилась на 10 сут. при помощи программы ImageJ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании влияния дефицитов меди и железа на рост основного корня *A. thaliana* с использованием техники теста на прорастание

было показано, что исключение из среды меди ингибирует рост основного корня арабидопсиса дикого типа Col-0 на 20% по сравнению с контролем, эффект исключения железа оказался сильнее и составил 30 %.

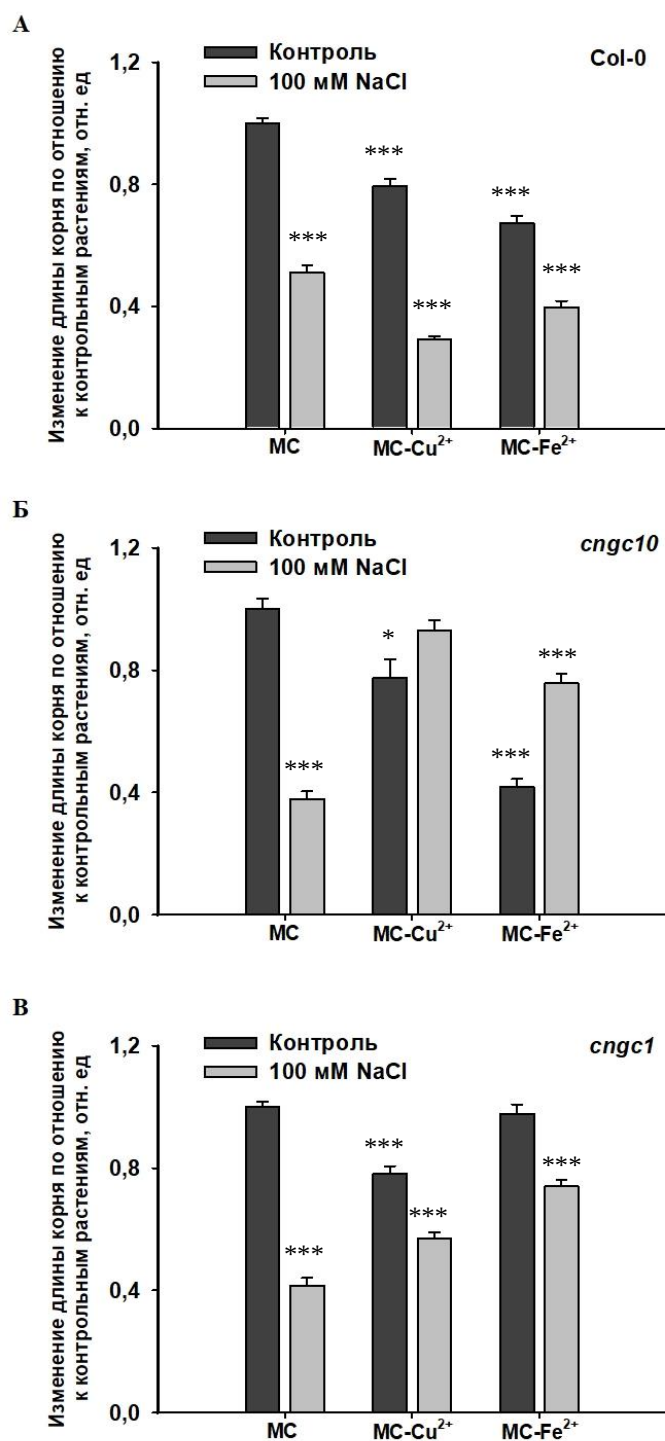


Рис. Зависимость длины основного корня арабидопсиса Col-0 (А), *cngc10* (Б) и *cngc1* (В) от микроэлементного состава среды выращивания и при добавлении NaCl. Достоверность различий рассчитывалась при помощи ANOVA теста по отношению к контролю: *, ** и *** означают $p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно

Сходный эффект ингибирования роста корней при дефиците микроэлементов наблюдался и у растений, выращенных на среде, содержащей 100 мМ NaCl (рисунок 2 А). У нокаутной линии *sngc1* недостаток меди и железа снижает прирост основного корня на 20 % и 5 % соответственно. При воздействии 100 мМ NaCl наблюдалось 50 % ингибирование роста корня при выращивании в контрольных условиях, так и при дефиците микроэлементов, однако, варианты, в которых в дефиците были медь и железо, показали лучшие результаты, рост основного корня был ингибирован всего на 23 %. В случае мутантной линии *sngc10*, у которой отсутствует ген, кодирующий канал, активирующийся циклическими нуклеотидами CNGC10, дефицит меди снизил ростовые показатели на 24 %, а железа – на 54 %. Эта линия также оказалась более устойчива к повышенным концентрациям хлорида натрия в среде, не содержащей медь и железо.

Таким образом, нами было показано, что у арабидопсиса дикого типа при воздействии 100 мМ NaCl наблюдалось 50% ингибирование роста основного корня при выращивании проростков как на среде МС, так и на средах с дефицитом микроэлементов. Подобный эффект был обнаружен и у линии *sngc1*. Растения арабидопсиса *sngc10* оказались более устойчивы к воздействию 100 мМ NaCl при выращивании на средах с дефицитом меди и железа. Вероятно, данный канал может быть вовлечен в ответ растений на солевой стресс.

Библиографические ссылки

1. Hansch, R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) / R. Hansch, R.R. Mendel // Current Opinion in Plant Biolog. – 2009. – Vol. 12. – P. 259-266.
2. Серегин, И. В. Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост / И. В. Серегин. – Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2009. – 53 с.
3. Copper in plants: acquisition, transport and interactions / Aula Dei [et al.] // Plant Physiology. – 2009. – Vol. 109. – P. 871–878.
4. Talke, I. CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signalling? / I. Talke // Trends in Plant Science. – 2003. – Vol. 8. – P. 286–293.