

УЧАСТИЕ КАТИОННЫХ КАНАЛОВ GORK В ГРАВИТРОПИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

А. Е. Стефанович

Белорусский государственный университет, г. Минск;

antony.stefanovich@gmail.com;

науч. рук. – В. В. Самохина, ст. преп.

Гравитропизм – это способность различных органов растения располагаться и расти в определённом направлении по отношению к центру земного шара. Понимание молекулярных и физиологических основ формирования гравитропического ответа растений является одной из ключевых проблем современной биологии, решение которой позволит создать сорта растений, которые будут устойчивы к стрессовым факторам и на Земле, и в космосе. Показано, что в регуляции гравитропической реакции участвуют полярный транспорт фитогормона ауксина, цитоскелет, транспорт ионов Ca^{2+} , H^+ и K^+ . При гравистимуляции проростков арабидопсиса происходит деполяризация плазматической мембраны клеток корней, что в свою очередь вызывает вход Ca^{2+} и выход K^+ . Гравитропическая реакция растений линии *gork1-1* связана с тем, что при отсутствии гена GORK не происходит значительной утечки ионов калия, что положительно влияет на рост, а, следовательно, и на угол наклона корня растения.

Ключевые слова: гравитропизм, катионный канал GORK, гравистимуляция, корень, арабидопсис.

ВВЕДЕНИЕ

Гравитропическая реакция – это ростовой ответ растения на изменение его положения в поле силы тяжести [1]. Внешним проявлением гравитропизма является ростовой изгиб, который восстанавливает нормальную ориентацию органов растения после изменения его положения в пространстве относительно вектора силы тяжести [1]. При отклонении того или иного органа от его естественного направления роста запускается сложный комплекс внутри- и межклеточных реакций, позволяющих растению восстановить правильное положение в пространстве.

В гравитропической реакции корня выделяют 3 этапа: 1) перцепция гравитационного стимула; 2) трансдукция сигнала; 3) развитие асимметричного ростового ответа. Восприятие гравитационного стимула осуществляется в статоцитах, которые в корнях располагаются в корневом чехлике [1, 2]. При отклонении осевого органа растения от вертикального положения гравитропическая реакция корректирует направление роста, тормозя рост на нижней стороне корня [2]. Показано,

в частности, что в регуляции гравитропической реакции участвуют полярный транспорт фитогормона ауксина, цитоскелет, транспорт ионов Ca^{2+} , H^+ и K^+ .

Ионный канал GORK – это наружу-выпрямляющий K^+ -канал, через который осуществляется потеря клеткой K^+ . Стрессы активируют канал GORK и усиливают отток из клеток корня калия, что приводит к индукции запрограммированной клеточной гибели, ионному дисбалансу и возможно к снижению конститутивного уровня анаболических реакций [3, 4]. Активация канала GORK при воздействии стресс-факторов приводит к снижению суммарного входа K^+ и замедлению роста корня. Следовательно, реакция скорости роста корня при воздействии гравистимуляции может быть показателем активности этих каналов. Цель настоящей работы – определить участие катионных каналов GORK в гравитропической реакции корня высших растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования были выбраны корни 7-дневных проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. 2-ух линий: 1) дикий тип экотипа Wassilevskija (WS-0); 2) *gork1-1* (у которой отсутствует ген, кодирующий наружу-выпрямляющий K^+ -канал GORK).

Среда выращивания содержала смесь солей Мурасиге и Скуга (МС) с микроэлементами, а также 1 % сахарозу и 0,35 % фитогель (рН 6,0). Проавтоклавированная горячая среда разливалась в чашки Петри. Семена высаживались в ламинар-боксе на свежую затвердевшую среду. Чашки изолировались стерильной пластичной парафиновой пленкой с бумажной подложкой фирмы «Parafilm», которая позволяет проходить процессу газообмена, но не пропускает микроорганизмы. Чашки с высаженными семенами выдерживались 2 суток при 4 °С в темноте, что стимулировало их выход из состояния покоя. Затем они помещались в стерильный ростовой термостат с контролируемыми условиями освещения (16 ч света и 8 ч темноты) и температурой (22 °С), где культивировались в течение 6 суток. На 7 сутки проводилась гравистимуляция проростков арабидопсиса путём поворота чашек Петри с растениями в вертикальной плоскости на 90° относительно вектора силы тяжести. И через каждые 30 минут с помощью фотоаппарата проводилась регистрация гравитропической реакции корня на протяжении 5 часов. Фотографии обрабатывались в программе ImageJ, а статистический анализ данных проводился при помощи ANOVA-теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было замечено, что не у всех проростков арабидопсиса в ответ на гравистимуляцию формировался гравитропический изгиб корня. Только 85% растений нокаутной линии *gork1-1* и 70% проростков дикого типа экотипа WS-0 отреагировали на гравистимуляцию, поэтому дальнейшие измерения проводили лишь на этих корнях. На рисунках 1 и 2 показано, что угол наклона корней арабидопсиса линии *gork1-1* был достоверно больше по сравнению с диким типом после 2-часовой гравистимуляции и далее на протяжении всего эксперимента. Также установлено, что скорость роста корней линии *gork1-1* (1.21 ± 0.16 мм/ч) была выше приблизительно на 60% по сравнению с диким типом арабидопсиса WS-0 (0.76 ± 0.14 мм/ч).

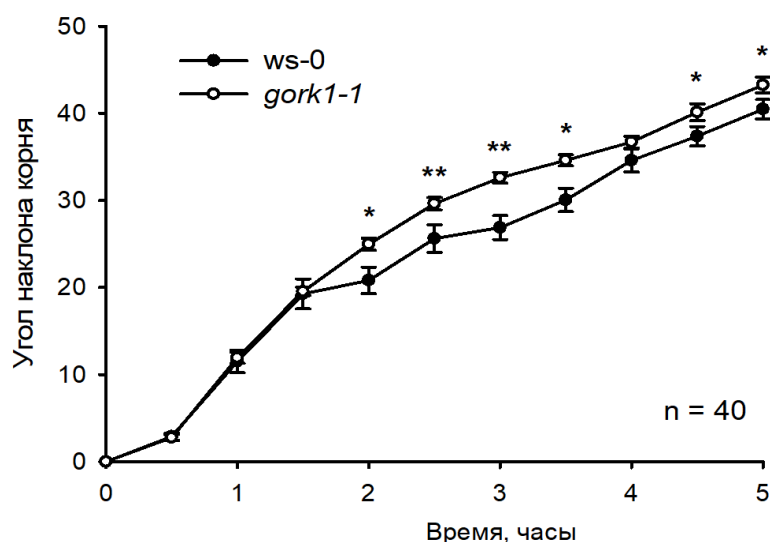


Рис. 1. Изменение угла наклона корней арабидопсиса линий WS-0 и *gork1-1*. Достоверность различий рассчитывалась при помощи ANOVA теста по отношению к дикому типу: * и ** означают $p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно

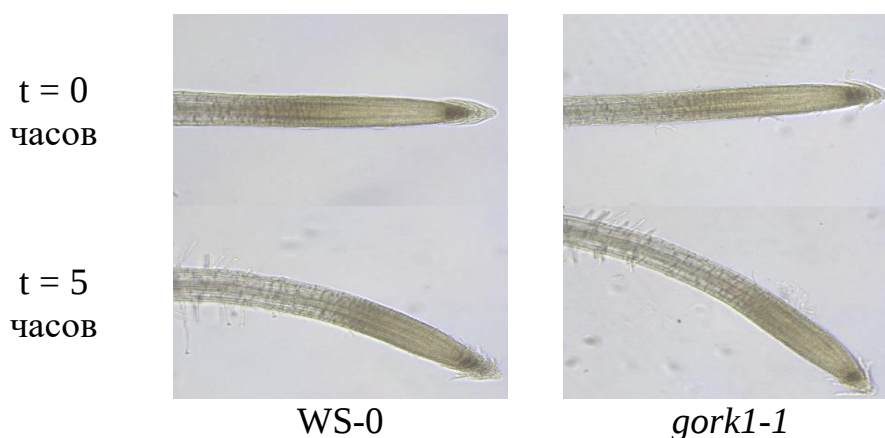


Рис. 2. Фотографии корней арабидопсиса до и после 5-часовой гравистимуляции

При гравистимуляции проростков арабидопсиса происходит деполяризация плазматической мембраны клеток корней, что в свою очередь вызывает вход ионов кальция и выход калия. Реакция растений линии *gork1-1* на гравистимуляцию (рис. 1 и 2), возможно, связана с тем, что при отсутствии гена GORK не происходит значительной утечки ионов калия, что положительно влияет на рост, а, следовательно, гравитропическую реакцию корня растения.

Таким образом, продемонстрировано, что при гравистимуляции проростков арабидопсиса путём поворота на 90° только 70-85% от общего количества растений формировали гравитропический изгиб; 2) угол наклона корней у арабидопсиса линии *gork1-1* достоверно увеличивался по сравнению с диким типом после 2-часовой гравистимуляции; 3) при гравистимуляции скорость роста корней у линии *gork1-1* по сравнению с диким типом была выше на 60%.

Библиографические ссылки

1. Пожванов, Г.А., Перестройки актинового цитоскелета в ходе гравитропической реакции корней арабидопсиса/ Г.А. Пожванов, Д.В. Суслов, С.С. Медведев // Цитология. – 2013. – № 55. – С. 28-35.
2. Медведев, С.С. Космическое растениеводство – новый вызов физиологии растений 21 века / С.С. Медведев // Физиология растений – основа создания растений будущего: материалы IX съезда общества физиологов растений России, Казань, 18–24 сентября 2019 г. / Казанский федеральный университет. – Казань. – 2019. – С. 256–356.
3. GORK channel: a master switch of plant metabolism? / G.D. Adem [et al.] // Trends in Plant Science. – 2019. Vol. 25, № 5. – P. 434-454.
4. Пожванов, Г.А. Низкомолекулярные метаболиты, этилен и актиновый цитоскелет вовлечены в регуляцию гравитропического ответа корней *Arabidopsis thaliana* / Г.А. Пожванов // Химия и технология растительных веществ: X Всероссийская научная конференция и школа молодых ученых, Казань, 5-9 июня 2017 г. / ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН. – Казань. – 2017. – С. 83–84.