

направлено на выяснение их роли при действии ВД. В наших экспериментах окислительные процессы активизировались в клетках каллусов наряду с небольшим снижением содержания общей воды в ответ на ВД. Назначением ДГ, которые накапливались в ответ на ВД, может быть не только роль “молекулярного щита”, который снижает вероятность неспецифических взаимодействий и повреждений мембран и белков, но и роль связывания АФК и снижения таким образом интенсивности окислительных процессов, сопутствующих развитию ВД. Раскрытие роли данных ДГ сосны обыкновенной в формировании устойчивости к окислительному стрессу, который сопровождает ВД, и выявление механизма их действия требуют дальнейших исследований.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10035, <https://rscf.ru/project/23-24-10035>.

Библиографические ссылки

1. Atkinson, J.; Clarke, M.W.; Warnica, J.M.; Boddington, K.F.; Graether, S.P. Structure of an Intrinsically Disordered Stress Protein Alone and Bound to a Membrane Surface. *Biophys J.* 2016, 111, 480-491. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.07.001>.
2. Sen, A. Oxidative stress studies in plant tissue culture. In *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology “Antioxidant Enzyme”*; ElMissiry, M.A., Ed.; World’s largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher (INTECH): London, UK, 2012; pp. 59–88.
3. Wang, X.; Liu, H.; Li, Y.; Zhang, L.; Wang, B. Heterologous overexpression of Tawzy1-2 gene encoding an SK3 dehydrin enhances multiple abiotic stress tolerance in *Escherichia coli* and *Nicotiana benthamiana*. *Planta*. **2024**, 259, 39. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04328-4>.

Модификация ионных токов через плазматическую мембрану клеток корня *Arabidopsis thaliana* L. при воздействии Ni²⁺

Кошель С. А.^А, Гриусевич П. В.^А, Мацкевич В. С.^А, Демидчик В. В.^{А*}

^А *Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: dzemidchyk@bsu.by*

Никель – тяжелый металл, токсичный для растительных и животных организмов. Его содержание в среде постоянно увеличивается в связи с развитием промышленности и поступлением из природных источников [1]. На сегодняшний день отказ от использования никелевых сплавов для снижения его выброса в среду невозможен. Так, никель является обязательным компонентом нержавеющей стали и других изделий, используемых в быту. У большинства видов растений никель вызывает задержку роста и развития, хлороз и некроз листьев. Одним из ранних симптомов

токсичности Ni^{2+} является замедление удлинения клеток корня и побурение корневой системы. [2]. Первичной мишенью воздействия никеля на высшие растения является плазматическая мембрана клеток корня. Ряд исследований указывают на то, что Ni^{2+} могут блокировать катионные каналы и транспортеры в плазматической мембране, приводя к нарушению транспортных свойств мембраны и вызывая дефицит микроэлементов у растений [3]. Особый интерес представляет воздействие никеля на калиевую проводимость плазматической мембраны высших растений в связи с высокой значимостью данного элемента в регуляции большинства физиологических процессов в растительной клетке. Показано, что при воздействии стрессовых факторов одной из первичных реакций является отток калия из клеток корня [4]. Потенциально данную реакцию могут опосредовать K^+ -селективные и ряд неселективных катионных каналов [5]. Токсичность избытка Ni^{2+} для растений обусловлена его высокоспецифичным связыванием с некоторыми группами лигандов в белках и полисахаридах, а также индукцией окислительного стресса вследствие гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) [6]. В присутствии высоких уровней Ni^{2+} в клетках растений обнаруживаются многочисленные окислительные повреждения, однако механизмы редокс-зависимых токсических эффектов Ni^{2+} остаются неясными, так как, по имеющимся данным, в биологических условиях ионы Ni^{2+} не проявляют редокс-активности и, следовательно, не могут напрямую катализировать реакции Хабера-Вейса для образования гидроксильных радикалов. АФК-генерирующую способность Ni^{2+} связывают с тем, что катализатором синтеза АФК могут выступать редокс-активные комплексы Ni –Гис и Ni –Гис₂, способные к переносу электронов на молекулу H_2O_2 и генерации гидроксильных радикалов, а не сами Ni^{2+} . Такие комплексы образуются только с L-гистидином, который синтезируется в растениях в ответ на никелевый стресс, и должны способствовать снижению токсического эффекта от Ni^{2+} . Однако, в соответствии с рядом исследований, никель-гистидиновые комплексы могут обладать большей токсичностью в связи с высокой способностью катализировать генерацию АФК. Следовательно, важной задачей при исследовании воздействия никелевого стресса, является анализ воздействия комплексов никеля с гистидином на проводимость плазматической мембраны клеток корня высших растений [7].

В работе использовались 7-12-дневные проростки *A. thaliana* природного экотипа WS-0, культивируемые в одинаковых стерильных условиях на гелевой среде, содержащей 100% солей по стандартной прописи Мурашиге и Скуга с витаминами, 0,25% фитогеля, 1% сахарозы, pH 6,0. Протопласты выделялись согласно ранее разработанным протоколам с использованием ферментативных смесей, содержащих целлюлазу Onozuka RS

(Yakult Honsha, Япония), целлюлизин (CalBiochem, Великобритания), пектолиазу Y-23 (Yakult Honsha, Япония) [8]. Для создания гигаомной изоляции между стеклянным микроэлектродом и плазматической мембраной протопласта, использовался наружный раствор следующего состава: 20 mM CaCl_2 , 0,1 mM KCl , 2 mM Мес, 1 mM Трис, pH 6,0. Состав пипеточного раствора: 40 mM глюконата калия, 10 mM KCl , 100 нМ Ca^{2+} (0,85 mM CaCl_2 , 2 mM ЭГТА), pH 7,2. Электрофизиологические измерения производились при помощи пэтч-кламп усилителя Dagan Cornevores Series (Dagan Corporation, Япония) и аналого-цифрового преобразователя на базе Axon Instruments (Molecular Devices, США). Использовались стандартные пэтч-кламп протоколы, ранее развитые в наших лабораториях [8]. Подавались прямоугольные импульсы напряжения от -180 мВ до $+45$ мВ в деполяризующем направлении. Токи регистрировались на максимуме активации, на их основе строились и анализировались стационарные вольт-амперные кривые.

В контрольных условиях были зарегистрированы классические наружу- и внутрь направленные проводимости плазматической мембраны клеток корня *A. thaliana*. При гиперполяризации мембраны (потенциал фиксации = -180 мВ) была зарегистрирована внутрь-направленная Ca^{2+} -проводимость. При деполяризации ($+45$ мВ) – наблюдался время-зависимый наружу-направленный K^+ -ток. При добавлении в наружный раствор 1 mM Ni^{2+} было зарегистрировано ингибирование выходящего K^+ -тока $\sim$ в 1,8 раза, изменений в Ca^{2+} -проводимости зарегистрировано не было. Согласно литературным данным, совместное введение Ni^{2+} и гистидина способствует снижению токсического эффекта от данных ионов [7]. В этой связи было протестировано изменение проводимости плазматической мембраны клеток корня *A. thaliana* при введении в наружный раствор 1 mM Ni^{2+} и 2 mM гистидина. Было зарегистрировано «лавинообразное» повышение выхода K^+ $\sim$ в 2 раза по сравнению с контролем, при этом активации Ca^{2+} -проницаемых каналов не наблюдалась. Снижение выхода K^+ из клеток корня, вероятно, указывает на блокирование наружу-выпрямляющих K^+ -каналов GORK, доминирующих в плазматической мембране клеток корня высших растений. Последующее восстановление и увеличение выходящего K^+ -тока может быть связано с хелатированием ионов никеля и последующей активацией наружу-выпрямляющих K^+ -каналов ввиду редокс-активности данных комплексов.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект Б24-060) и ГПНИ (№ ГР 20241163).

Библиографические ссылки

1. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment / B. Shahzad [et al.] // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2018. – Vol. 132. – P. 641–651.
2. Мацкевич, В. С. Механизм трансмембранного и дальнего транспорта никеля в высших растениях / В. С. Мацкевич, В. В. Демидчик // *Экспериментальная биология и биотехнология*. – 2023. – №. 2. – С. 4–29.
3. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution / H. Rahman [et al.] // *Journal of Plant Nutrition*. – 2005. – Vol. 28. – P. 393–404.
4. Demidchik, V. Mechanisms and physiological roles of K⁺ efflux from root cells / V. Demidchik // *J. Plant Physiol.* – 2014. – Vol. 171. – P. 696–707.
5. Demidchik, V. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signaling and development / V. Demidchik, F. Maathuis // *Tansley Review. New Phytol.* – 2007. – Vol. 175. – P. 387–405.
6. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation / M.A. Hossain [et al.] // *J. Bot.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 1–37.
7. Ингибирование ростовых процессов и индукция запрограммированной клеточной гибели в корне *Helianthus annuus* L. под действием ионов никеля и никель-гистидиновых комплексов / В. С. Мацкевич [и др.] // *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. – 2020. – №. 1. – С. 11–19.
8. Demidchik, V. Sodium fluxes through nonselective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from *Arabidopsis* roots / V. Demidchik, M. Tester // *Plant Physiology*. – 2002. – Vol. 128, № 2. – P. 379–387.

Анализ морфологических симптомов поражения декоративных растений фитопатогенами с использованием подходов цифрового фенотипирования

**Кошиц Т. О.^{A*}, Прохорчик П. О.^A, Бондаренко В. Ю.^A,
Демидчик В. В.^A**

^A *Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: tanya.koschits@icloud.com*

Активные формы кислорода (АФК) играют важную роль в процессе поражения растений фитопатогенами. АФК могут оказывать как защитное действие, способствуя гибели патогенов, так и повреждать растительные ткани, усиливая симптомы поражений [1, 2]. Визуальная диагностика позволяет фиксировать проявления этих процессов на уровне тканей и органов растений. Наличие некрозов, хлорозов, пятен и деформаций листьев часто связано с локальными вспышками продукции АФК в ответ на патогенное воздействие. Аннотация и анализ изображений помогают выявлять