

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ Cd И ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ КАТИОНОВ ВНУТРИ ХЛОРОПЛАСТОВ. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ПОИСКУ МИШЕНЕЙ Cd

Е.А. Лысенко, А.А. Клаус, А.В. Карташов, В.В. Кузнецов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, genlysenko@mail.ru

Аннотация: Изучено поступление Cd в хлоропласты и его распределение между стромой и тилакоидами. *In vivo*, Cd в основном поступает в тилакоиды, а *in vitro* распределяется между стромой и тилакоидами примерно поровну. Одновременный анализ распределения эссенциальных катионов показал, что в тилакоидах количество Cd достаточно для конкуренции с Cu, Zn, Mn и слишком мало по сравнению с Mg, Ca, Fe, K. Сравнительный анализ влияния Cd, Cu и Fe, выявил специфичность воздействия Cd на состав катионов в хлоропластах.

Ключевые слова: кадмий, хлоропласты, тилакоиды, строма, распределение катионов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1077-1078

Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов. В процессе эволюции растения сформировали механизмы защиты наиболее важных процессов от воздействия Cd. Один из наиболее важных – это ограничение его поступления из корня в побег, в частности в хлоропласты. В результате функционирования этих механизмов в хлоропласты попадает очень малые количества Cd [Lysenko et al., 2015]. Однако хорошо известно, что у растений, подвергающихся действию Cd, эффективность фотосинтеза снижается. До сих пор остаётся не известным, вызвано ли это прямым воздействием Cd или же это опосредованный результат токсического действия этого тяжелого металла на другие процессы у растений. В экспериментах *in vitro* показано, что Cd способен повреждать молекулярные комплексы фотосинтетического аппарата, однако это продемонстрировано с использованием за пределами высоких концентраций Cd, который не возможен *in vivo* (растение погибает при меньшем накоплении Cd). Остается не ясным, какие именно процессы в фотосинтезе могут быть ингибированы прямым действием Cd *in vivo*: свето-индуцируемые процессы в электрон-транспортной цепи, находящейся в тилакоидной мембране, или свето-независимые («темновые») процессы фиксации CO₂ в строме.

Поскольку известно, что в хлоропластах растений накапливается малое количество Cd, то для достижения токсического эффекта буквально каждый катион должен участвовать в ингибировании. Поэтому мы подошли к решению этого вопроса с позиции количественного анализа. До сих пор оставалось неизвестным, каким образом Cd распределяется внутри хлоропластов. Мы использовали 9-дневные растения ячменя, которые подвергали воздействию Cd в течение 6 дней. Из листьев были выделены интактные хлоропласты высокой степени очистки, лизированы осмотическим шоком и разделены центрифугированием. Осадок содержал тилакоиды, а супернатант – строму с обрывками хлоропластного энвелопа. Анализ показал, что 4/5 кадмия приходится на тилакоиды, и лишь 1/5 его часть накапливается в строме. Это указывает на то, что в хлоропластах мишенью Cd является световая фаза фотосинтеза. Стромальные процессы (темновая фаза фотосинтеза, экспрессия генов, прочие ассимиляционные процессы) вряд ли могут быть заметно ингибированы столь малым количеством Cd.

Для сравнения были изучены процесса аккумуляции хлоропластами Cd *in vitro*. В этой модели хлоропласты накапливали гораздо больше Cd, и он распределялся между тилакоидами и стромой примерно в равных долях.

Cd не является металлом с переменной валентностью, и не может сам индуцировать окислительно-восстановительные процессы. Основным механизмом его токсического действия – это замещение других двухвалентных катионов, в основном в белках. Параллельно с кадмием мы изучили распределение в хлоропластах основных двух валентных катионов – Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu – и одного одновалентного катиона – K. Сравнительный анализ показал, что количество Cd в тилакоидах достаточно для конкуренции с белковыми комплексами, содержащими Cu (пластоцианин), Zn (карбоангидраза и/или протеазы FtsH) или Mn (водоокисляющий комплекс фотосистемы 2). Описана общая картина распределения этих катионов: из листа в хлоропласт и внутри хлоропласта между стромой и тилакоидами.

Для определения специфичности воздействия Cd, его влияние было сопоставлено с действием других тяжёлых металлов. Растения выращивали 6 дней в присутствии в минеральной среде Cd (80 мкМ), Cu (80 мкМ) или Fe (1.5 мМ). Кадмий изменял содержание всех изученных эссенциальных катионов. Содержание в хлоропластах K и Mn изменялось сходным образом при воздействии любого из тяжёлых металлов (Cd, Cu или Fe), изменения содержания остальных катионов было специфично для воздействия Cd. Из наиболее интересных эффектов следует отметить, что при воздействии Cd *in vivo* в хлоропластах уменьшалось накопление Zn. По-видимому, это результат конкурентного ингибирования транспорта Zn в хлоропласты. Кроме того, при воздействии Cd *in vivo* в хлоропластах происходит массовое перемещение Ca из стромы в тилакоиды. Скорее всего, это защитный механизм, позволяющий растениям защитить процессы в тилакоидах от конкурентного ингибирования со стороны катионов Cd.

Работа поддержана грантом РФФ № 14-04-00584.

Литература

Lysenko E.A., Klaus A.A., Pshybytko N.L., Kusnetsov V.V. Cadmium accumulation in chloroplasts and its impact on chloroplastic processes in barley and maize // Photosynthesis Research. – 2015. – V. 125, № 1-2. – P. 291–303.

THE DISTRIBUTION OF Cd AND ESSENTIAL CATIONS INSIDE CHLOROPLASTS. A QUANTITATIVE APPROACH TO SEARCHING FOR Cd TARGETS

E.A. Lysenko, A.A. Klaus, A.V. Kartashov, V.V. Kusnetsov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, genlysenko@mail.ru

Abstract. We studied Cd accumulation in chloroplasts and its distribution between stroma and thylakoids. *In vivo*, Cd was primarily accumulated in thylakoids; *in vitro* it was distributed between stroma and thylakoids near equally. Simultaneous analysis of essential cations revealed that in the thylakoids the quantity of Cd is sufficient to compete with Cu, Zn, Mn, and too low as compared to the levels of Mg, Ca, Fe, K. Comparison of Cd, Cu, and Fe treatments revealed specific effects of Cd on cation contents in chloroplasts.

Keywords: *cadmium, chloroplasts, thylakoids, stroma, cation distribution*