

ИЗМЕНЕНИЕ В СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ВАКУОЛЯРНОГО КОМПАРТМЕНТА КЛЕТОК КАЛЛУСА ЯЧМЕНЯ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ АЛЮМИНИЯ

Н.В. Кононенко¹, Е.Н. Баранова¹, И.А. Чабан¹, О.Н. Щуплецова², И.Г. Широких²

¹ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии,
Москва, e-mail: nilava@mail.ru

²ФГБНУ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства
Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, Киров, e-mail: irgenal@mail.ru

Согласно современным представлениям, одним из механизмов цитотоксического действия алюминия является окислительный стресс (ApeI, 2004). На него указывает обнаруженная в растениях, подвергнутых воздействию токсичных концентраций алюминия, активация генов пероксидазы и глутатион-S-трансферазы. Защита осуществляется функционированием антиоксидантной системы, которая включает как антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и каталаза) так и низкомолекулярные антиоксиданты, которые перехватывают свободные радикалы, восстанавливают активные формы кислорода (АФК) и продукты окислительного метаболизма (Креславский и др., 2012; Van Breusegem et al., 2001; ApeI, 2004).

На клеточном уровне потенциальными мишенями токсического действия алюминия являются клеточные стенки и плазматические мембраны (Kochian et al., 2005), ядерная ДНК (Silva et al., 2000), ядрышки (Qin et al., 2010) и цитоскелет (Sivaguru et al., 2003).

Цель настоящей работы – изучить действие алюминия на структурную организацию вакуолярного компартмента клеток каллуса гибридной линии ячменя Дуэт × Биос.

С использованием метода электронной микроскопии проведен сравнительный анализ структурной организации каллусов гибридной линии ячменя Дуэт × Биос, выращенных в стандартных условиях культивирования и на средах, содержащих ионы алюминия (20 мг/л и 40 мг/л).

В структуре периферической зоны каллуса, растущего в среде без алюминия, наблюдали дифференцированные клетки с многочисленными мелкими округлыми вакуолями с незначительными инвагинациями мембраны тонопласта, заполненные однородным материалом (рис. а, б).

Некоторые клетки содержали более крупные вакуоли, с плотными серповидными включениями и плотные глобулы (рис. в, г). Другой тип клеток включал вакуоли, содержащие глобулярные включения, окруженные дебрисом (рис. д, е).

Каллус, выращенный в селективных условиях (20 мг/л алюминия), формирует на своей поверхности многочисленные шаровидные выросты, в центральной области которых располагаются зоны меристематических клеток (морфогенные зоны), а на периферии морфогенных зон - дифференцированные клетки. Ближе к периферии каллуса располагаются клетки с многочисленными вакуолями, имеющими неровный край с глубокими инвагинациями со светлым содержимым (рис. ж, з), а также клетки, имеющие мелкие вакуоли с множественными плотными включениями, примыкающие к мембране тонопласта (рис. и, к) или клетки с вакуолями неправильной формы с различной плотностью (рис. л, м).

Основным структурным элементом каллусов, выращенных в условиях жесткого отбора (40 г/л алюминия, рН 4,0), являются крупные комплексы, сформированные из компактно расположенных клеток. В зоне темных клеток, ближе к периферии комплекса, располагаются дифференцированные клетки. В отдельных клетках наблюдали крупную вакуолярную сеть с темным гомогенным содержимым и неровным краем

(рис. *н, о*). Наиболее часто встречаются клетки с многочисленными крупными вакуолями, в которых депонирован глобулярный материал и плотные отложения вдоль мембраны тонопласта (рис. *н, р*). Также имеет место отсутствие вакуолей в ряде клеток, в которых формируются зоны, различающиеся по плотности (рис. *с, т*).

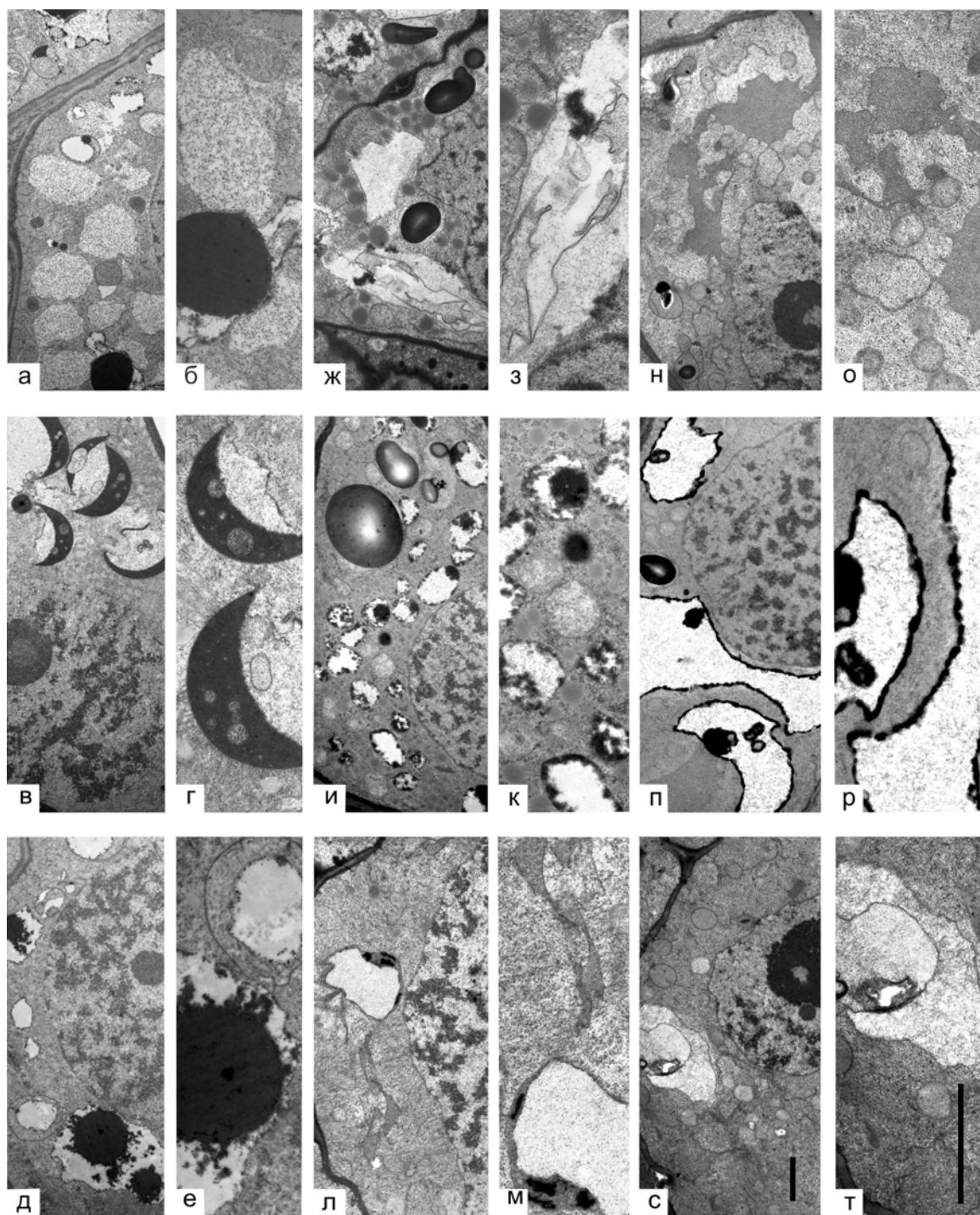


Рис. Ультраструктура клеток каллуса гибридной линии ячменя Дуэт х Биос:
а-е – контроль; *ж-м* – 20 мг/л алюминия; *н-т* – 40 мг/л алюминия. Масштабный отрезок 5 мкм.

Полученные в работе данные показывают, что на ультраструктурном уровне мишенью токсического действия алюминия на клетки ячменя являются вакуоли. По мере увеличения концентрации алюминия вакуоли изменяют структурную организацию от многочисленных мелких, иногда заполненных различающимся содержимым, до круп-

ных вакуолей с включением светлого или плотного материала в виде глобул и/или имеющих плотный прилегающий к мембране тонопласта материал. Можно предположить, что аккумуляция алюминия не препятствует синтезу мембран тонопласта, слиянию вакуолей, но оказывает влияние на состав внутреннего содержимого вакуолей, на их осмотические свойства и депонирование осмиофильного материала вдоль мембраны тонопласта. Возможно, что внутриклеточными механизмами, обеспечивающими толерантность клеток каллуса к действию алюминия, является активация экспрессии генов, кодирующих синтез белков тонопластной мембраны и влияющих на компартиментализацию алюминия в вакуоли.

Литература

Креславский В.Д., Лось Д.А., Алахвердиев С.И., Кузнецов В.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – С. 163–178.

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction // Ann. Rev. Plant Biol. – 2004. – V. 55. – P. 373–399.

Kochian L.V., Pineros M.A., Hoekenga O.A. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity // Root Physiology: from Gene to Function. Eds Kochian L.V. – 2005. – Netherlands: Springer. – P. 175–195.

Qin F.J., Sun Q.W., Huang L.M., Chen X.S., Zhou D.X. Rice SUVH histone methyltransferase genes display specific functions in chromatin modification and retrotransposon repression // Molecular plant. – 2010. – V. 3 (4). – P. 773–782.

Silva I. R., Smyth T.J., Moxley D.F., Carter T.E. Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy // Plant Physiology. – 2000. – V. 123 (2). – P. 543–552.

Sivaguru M., Ezaki B., He ZH, Tong H., Osawa H., Baluska F., Volkmann D., Matsumoto H. Aluminum-induced gene expression and protein localization of a cell wall-associated receptor kinase in Arabidopsis // Plant Physiology. – 2003. – V. 132 (4). – P. 2256–2266.

Van Breusegem F., Vranova E., Dat J.F., Inzé D. The role of active oxygen species in plant signal transduction // Plant Sci. – 2001. – V. 161. – P. 405–414.