

PLASZTISZOK SZERKEZETVÁLTOZÁSAI IONCSATORNA MUTÁNSOKBAN VALAMINT SÓSTRESSZ HATÁSÁRA

Sóti Adél, Horváth Sára, Solymosi Katalin

Növénysszervezettani tanszék, ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

A talaj magas sókoncentrációja gátolja a termesztett növények fejlődését, csökkenti hozamukat, és így világszerte egyre nagyobb problémát jelent a mezőgazdaság számára. A sóstressz komplex módokon hat a növény anyagcseréjére és életteni folyamataira, azonban ezek közül is kiemelkedő jelentőségű a növényi szintestek működésére és szerkezetére gyakorolt hatása. Só- és szárazságstressz, valamint a szintestek ionháztartásának zavarai (pl. esszenciális fémhiány illetve nehézfémstressz) esetén is gyakran megfigyelték a szintestekben a tilakoidmembrán hálózat szabálytalanná váló elrendeződését és a belső vizes fázisú kompartment, az ún. tilakoid lumen duzzadását. Ezek a jelenségek feltehetően összefüggnek a tilakoid lumen víz- és ionháztartásának megbomlásával, azonban pontos molekuláris hátterük máig tisztázatlan.

Korábbi munkáink során különböző sótoleranciájú (érzékeny illetve toleráns) búza (*Triticum aestivum*) fajták etioplasztiszaiában írtunk le hasonló jelenségeket só-sokk (300 mM KCl és egyidejű 300 mM NaCl) kezelés hatására, de a protilakoidok jelentős mértékű duzzadása inkább az érzékeny fajtában (Giza 168) volt nagymértékű, míg a sótoleráns fajta (Sids1) membránjaiban helyett inkább vezikulumok képződése volt jellemző. A toleráns fajta nagyobb membránstabilitása abban is megnyilvánult, hogy a sötétben kialakult prolamelláris test nevű membránrendszer fény hatására történő átalakulása eleve lassabban ment benne végbe, mint az érzékeny fajtában. Újabb vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy azonos ozmolaritású PEG oldattal történő kezelés is hasonló hatást vált-e ki, mint a só-sokk. Módosított elektronmikroszkópos fixálási protokoll segítségével bizonyítottuk, hogy a tapasztalt lumen duzzadás nem a hígabb fixáló alkalmazása miatt bekövetkező hipoozmotikus sokk következménye, hanem feltehetően valamelyik ionos komponens váltja ki. Felmerül azonban, hogy melyik ion(ok) (Na^+ , K^+ vagy Cl^-) jelenléte függhet össze a tapasztalt ultrastrukturális változásokkal.

Az ionos komponensek vizsgálatait megnehezíti az, hogy a tilakoidmembránban egyelőre igen kevés ion transzport komponens (transzportert és csatornát) sikerült azonosítani. Nemrég *Arabidopsis thaliana* növényekben azonban leírásra kerültek olyan kloridion csatornák (AtClCe illetve AtVCCN1), melyeknek fontos szerepe van a lumen ionháztartásának fenntartásában. A csatornák hiányában egyfelől a tilakoid hálózat szabályos szerkezete módosul (*clce* mutáns) illetve megnő a tilakoidok görbülete és kismértékben lecsökken a lumen mérete is (*vccn1* mutáns). A most induló OTKA kutatásunk keretén belül tervezett további szisztematikus vizsgálataink fényt deríthetnek arra, hogy a korábban leírt ioncsatornáknak (és az általuk szállított ionoknak) van-e szerepe a tilakoid lumen sóstresszel összefüggő duzzadásában.

A kutatásokat az OTKA (FK 124748) és az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíja támogatta. Köszönetet mondunk Jónás Csillának az elektronmikroszkópos mintaelőkészítésben nyújtott értékes munkájáért.

PLASZTISZOK SZERKEZETVÁLTOZÁSAI IONCSATORNA MUTÁNSOKBAN VALAMINT SÓSTRESSZ HATÁSÁRA

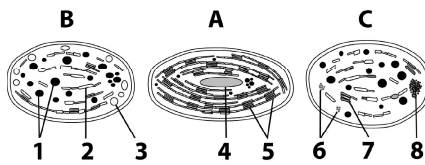
Sóti Adél¹, Horváth Sára¹, Solymosi Katalin¹

¹Növénysszervezettani tanszék, ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

Bevezetés

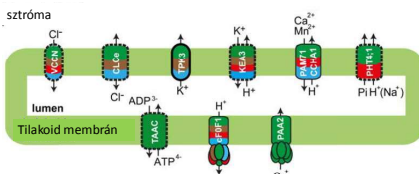
A talaj magas sókoncentrációja gátolja a termesztett növények fejlődését, csökkentheti hozamukat, és így világszerte egyre nagyobb problémát jelent a mezőgazdaság számára. A sóstressz komplex módon hat a növény anyagcseréjére és élettani folyamataira, azonban ezek közül is kiemelkedő jelentőségű a növényi szintestek működésére és szerkezetére gyakorolt hatása. Sós és szárazságstressz, valamint a szintestek ionháztartásának zavara (pl. esszenciális fémhiány illetve nehézfémstressz) esetén is gyakran megfigyeltek a szintestekben a tilakoidmembrán hálózat szabálytalanná váló elrendeződését és a belső vizes fázisú kompartment, az ún. tilakoid lumen duzzadását. Ezek a jelenségek feltehetően összefüggnek a tilakoid lumen víz- és ionháztartásának megbomlásával, azonban pontos molekuláris hátterük máig tisztázatlan.

Plasztisz szerkezetváltozások



A normál zöld szintestek (A) leggyakoribb szerkezetváltozásait összefoglaló séma esszenciális fémhiány (B) vagy nagy feleslegben adott fémionok jelenlétében (C) [1]. Megfigyelhető a szintestek alakváltozása, duzzadása, a tilakoid rendszer szabályosságának és kiterjedésének és az alábbi képletek módosulása: 1: plasztoglobulusok, 2: megduzzadt intratylakoidális tér, 3: perifériális vezikulumok; 4: keményítőszemcskék, 5: gránumok, 6: szabályosan pontozott testek, 7: sötét lerakódások a tilakoidok felszínén, 8: ferritin.

Ismert tilakoidban található ion transzport komponensek



Azonosított ioncsatornák, transzporterek és pumpák az *Arabidopsis thaliana* tilakoidmembránjában [2]. Zöld, barna, vörös illetve kék színnel vannak jelölve azok a fehérjék, melyeknek zöldalgákban, kovaalgákban, vörösalgákban és cianobaktériumokban is vannak homológjaik. A csak predikción alapuló homológ fehérjék szaggatott vonallal vannak keretezve.

Növényi anyagok

- 14 napos, sötétben csíráztatott búza (*Triticum aestivum*) sóérzékeny (cv. Giza 168) [3] és sótoleráns (cv. Sids1) fajtáinak levelei
- 6 hetes *Arabidopsis thaliana* növények levelei az alábbi ökotípusokból: Col-0, tilakoid klóridionszatszóra (vccn - [4], clce - [5]) és dupla (vccnclce) mutánsok

Módszerek

- Transzmissziós elektronmikroszkópia (HITACHI 7100 TEM)

Hivatkozások

- [1] Solymosi K, Bertrand M (2011) Heavy metals and plastid metabolism. In: Handbook of plant and crop stress. Third edition. (Ed. Pessarakli M), Taylor & Francis Group, CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 675-711. ISBN: 978-1-4398139-6-6.
- [2] Spetee et al. (2017) Physiol Plant 161 (1) 16-27.
- [3] Abdelkader et al. (2007) J Exp Bot 58 (10) 2553-2564.
- [4] Herdean et al. (2016) Nat Comm 7:11654.
- [5] Herdean et al. (2016) Front Plant Sci 7:115.

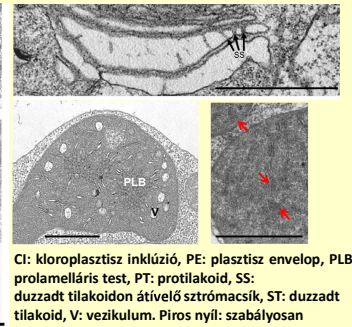
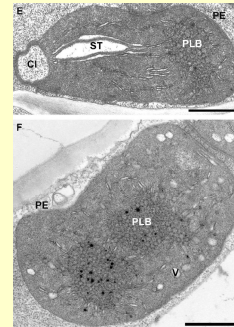
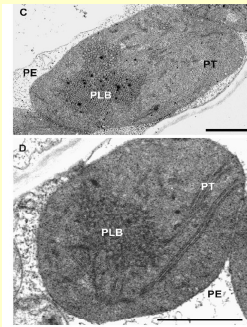
Sóstressz hatása búza etioplasztiszokra és zöldülésükre

4.5 óra kezelés, sötétben

KONTROLL (tápoldaton) só kezelés (600 mM NaCl:KCl 1:1 arányban)

Érzékeny fajta
cv. Giza 168

Toleráns fajta
cv. Sids1



CI: kloroplasztisz inklúzió, PE: plasztisz envelop, PLB: prolamelláris test, PT: protilakoid, SS: duzzadt tilakoidon átívelő sztrómácsík, ST: duzzadt tilakoid, V: vezikulum. Piros nyíl: szabályosan pontozott test. Vonal: 1 µm.

1.5 h sötét kezelés, 3 h megvilágítás

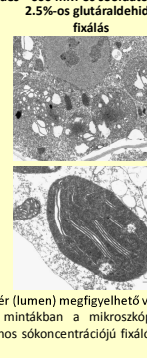
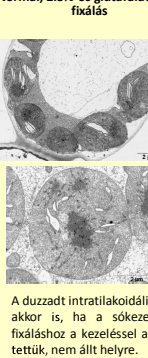
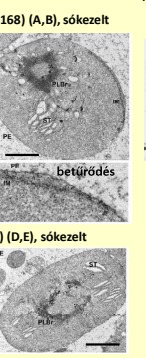
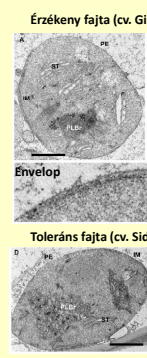
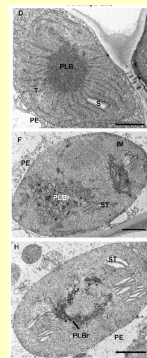
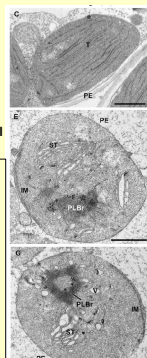
ÉRZÉKENY (cv. Giza 168) TOLERÁNS (cv. Sids1)

ENVELOP MEMBRÁN BETÜRÖDÉS

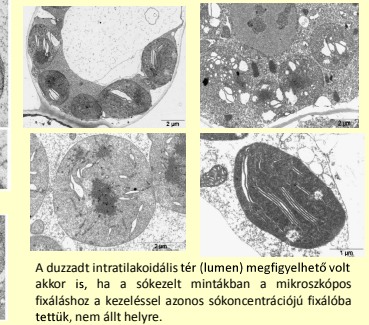
Kontroll (C,D)
(tápoldaton)

Sókezelés (E-H)
600 mM NaCl:KCl
1:1 arányban

IM: envelop
membrán
betürődés, PE:
plasztisz
envelop, PLB:
prolamelláris
test, PLB: PLB
maradvány, S:
keményítő, ST:
duzzadt tilakoid,
T: tilakoid.
Vonal: 1 µm.



4.5 óra kezelés, sötétben
Érzékeny fajta (cv. Giza 168), sókezelés
Normál, 2.5%-os glutáraldehidézis
fixálás 600 mM-os sóoldatos,
2.5%-os glutáraldehidézis
fixálás



A duzzadt intratylakoidális tér (lumen) megfigyelhető volt akkor is, ha a sókezelés mintájában a mikroszkópos fixáláshoz a kezeléssel azonos sókoncentrációjú fixálóba tettük, nem állt helyre.

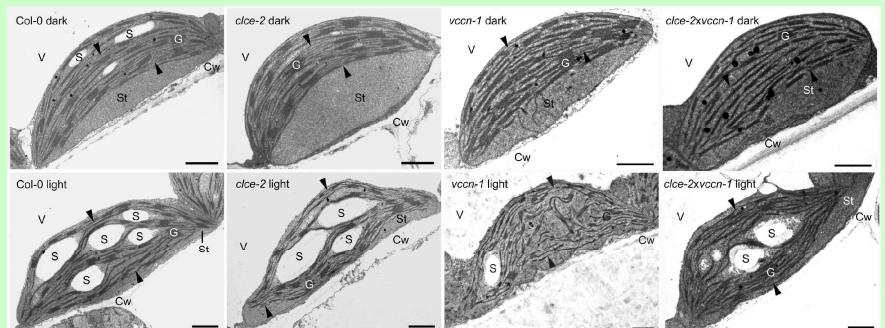
A (pro)tilakoidok jelentős mértékű duzzadása inkább az érzékeny fajtában (Giza 168) volt nagymértékű, míg a sótoleráns fajta (Sids1) membránjaiban elhelyezett inkább vezikulumok képződése volt jellemző sötétben. A toleráns fajta nagyobb membránstabilitása abban is megnyilvánult, hogy a sötétben kialakult prolamelláris test nevű membránrendszer fény hatására történő átalakulása eleve lassabban ment benne végbe, mint az érzékeny fajtában. Módosított elektronmikroszkópos fixálási protokoll segítségével bizonyítottuk, hogy a tapasztalt lumen duzzadás nem a hibább fixáló alkalmazása miatt bekövetkező hipoozmotikus sokk következménye, hanem feltehetően valamelyik ionos komponens váltja ki.

Kloridionszatszóra hiányának hatása kloroplasztiszok szerkezetére

Sötét-adaptált:



3 órája
megvilágított:
Arabidopsis
levél



Cw: sejtfal, G: gránum, S: keményítő, St: sztróma, V: vakuólum, fekete nyíl: sztrómatilakoid. Vonal: 1 µm.

A clc csatorna hiányában a tilakoid hálózat íveltbe elrendeződése és egy nagyobb, tilakoid mentes sztróma régió jelent meg a sejtfal felőli oldalon a sötétadaptált levelekben. A vccn mutánsban fényen bomlott meg a tilakoidok szabályos elrendeződése, itt a gránumok meggyűrűlése következett be. A dupla mutáns enyhébb formában mindkét mutáns fenotípusát mutatta. További vizsgálatok eldönthetik, hogy ezeknek a kloridionszatszóra hiányának van-e szerepe a tilakoidok sóstressz alatt bekövetkező duzzadásában.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatásokat az OTKA (FK 124748) és az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíja támogatta. Köszönjük Jónás Csillának az elektronmikroszkópos mintaelőkészítést.

