

УДК 581.19:582.28

**ПРОЦЕСС СУБЕРИНИЗАЦИИ И ОБМЕН
N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНА
В КОНСОРТИВНЫХ ВЗАИМОТНОШЕНИЯХ
«PICEA ABIES – ЭКТОМИКОРИЗНЫЕ ГРИБЫ»**

П. Ю. Колмаков

кандидат биологических наук,
доцент кафедры фундаментальной и прикладной биологии
Витебский государственный университет имени П. М. Машерова

Д. Д. Жерносеков

доктор биологических наук,
профессор кафедры фундаментальной и прикладной биологии
Витебский государственный университет имени П. М. Машерова

В процессе эволюции растения выработали механизмы, позволяющие им дифференцированно реагировать на проникновение грибного компонента и на установление консортивных связей. Благодаря процессам суберинизации и десуберинизации фитобионты способны регулировать поступление питательных веществ в микобионт (грибной компонент). В работе рассмотрены возможные молекулярные аспекты регуляции процессов суберинизации в области мембранных контактов фитобионта и микобионта и обмена N-ацетилглюкозамина (NAG) на модельной системе «Picea abies (L.) H. Karst. – эктомикоризные грибы». Сделано предположение, что суберинизация клеток корневого окончания влияет на поступление питательных веществ по радиальному апопластическому пути.

Ключевые слова: молекулярный механизм, N-ацетилглюкозамин, аденилатциклаза, хитиназы, хитиновые элиситоры, пелотоны, микориза, суберинизация.

Введение

Ассоциации, как динамические системы живых организмов, осуществляются на различных уровнях: экологическом, физиологическом, морфологическом, молекулярно-генетическом, биохимическом. Наиболее интересны в рассмотрении механизмы ассоциаций далеко разнородных живых организмов, приводящих к появлению новых свойств, расширяющих жизненные возможности конгломератов. Отбор в природе происходит у многокомпонентных организмов, у комплексов, с модификацией их в единое целое с приобретением более жизненно стойких свойств.

Разносторонние исследования конгломератов разнородных живых организмов не достигли того уровня, когда можно четко определить их вклад в биоэнергетику экосистем [1]. Можно лишь сказать, что в эктотрофной микоризе наиболее важным является взаимосвязь микобионта с фитобионтом, а не с растительным сообществом [2]. Взаимоотношения в ассоциациях проявляются рядом признаков, обеспечивающих гомеостаз организма на качественно новом уровне. Примером могут быть процессы суберинизации клеток фитобионта, контролирующих селективное поглощение веществ в многоклеточных организмах.

Известно, что синтез суберина является ответной реакцией на стресс и может регулироваться корневыми окончаниями, контролируя его синтез и разрушение. Суберин играет важную роль в адаптивных физиологически значимых реакциях гомеостаза питательных веществ [3].

На своем пути от центра к периферии корня вещества могут радиально транспортироваться по трем путям: симпластическому, апопластическому и связанному трансклеточному пути [4; 5]. Эндодермальная суберинизация со своей пластичностью имеет огромное значение для свободного радиального транспорта через гормональную регуляцию суберинизации и десуберинизации [3].

Взаимодействие разнородных организмов происходит в процессе действия определенных регуляторных механизмов через мессенджеры (посредники), например, через гифальные клубки (пелотоны), расположенные внутри клеток коры корневого окончания [6]. Пелотоны сходны с плазмалеммой, матриксом контактной зоны и зачастую при определенных условиях лишены аденилатциклазной активности [7]. При передаче сигнала аденилатциклаза активируется связанными с плазматической мембраной рецепторами и с G-белками (GPCR), которые передают стимулы в клетку [8]. На мембране пелотона наблюдается наличие нейтральных и кислых фосфатаз, катализирующих дефосфорилирование субстрата (как правило другого белка) [9]. АТФ-азная активность связана с работой белков-переносчиков НМА (*heavy metal ATPase*) [10]. Ген AtHMA4 (подкласс Zn/Co/Cd/Pb НМА) контролирует механизм поддержания постоянной концентрации металлов в физиологических пределах в растительном компоненте [11].

Хитиназы играют ключевую роль в защитной системе растительного компонента. Их синтез индуцируется внедрением микобионта [12; 13; 14]. Грибной компонент постоянно выделяет хитиновые элиситоры, которые индуцируют каскад защитных реакций у растительного компонента. Хитиназы фитобионта, переводя хитиновые элиситоры в мелкие неактивные единицы (мономеры N-ацетилглюкозамина (NAG)), стимулируют суберинизацию клеточных мембран. В этом случае не выявляются защитные реакции и симбиоз не устанавливается [13; 15]. Накопление N-ацетилглюкозамина в апопласте и связывание с олигосахаридами оказывает сильное влияние на архитектуру клеточной стенки и при этом активируется сигнальный каскад [16]. Наличие киназы (AtCERK1) в растительном компоненте, как рецептора распознавания элиситоров грибного компонента напрямую связывает хитин через лизинового мотив (Lys M), содержащий эктодомен (AtCERK1-ECD) для активации иммунного ответа. Эктодомен ингибируется короткими олигомерами хитина (N-ацетилглюкозамина) [17]. Мономер N-ацетилглюкозамина синтезируется всеми эукариотами и выполняет структурную функцию в составе биополимеров [18; 19].

В работе проведено исследование апопластического пути на примере модельной системы «*Picea abies* (L.) H. Karst. – эктомикоризные грибы». Данная система полноценно может существовать только там, где еще не сформировались пояски Каспари (CS), тотальная суберинизация клеток в экзодерме, мезодерме и эндодерме.

Материалы и методы исследования

Цель. Изучить возможный механизм процессов суберинизации и обмена N-ацетилглюкозамина в консортивных взаимоотношениях.

Задача. Рассмотреть возможные молекулярные аспекты регуляции процессов суберинизации в области мембранных соприкосновений и обмена N-ацетилглюкозамина на модельной системе «*Picea abies* (L.) H. Karst. – эктомикоризные грибы».

Объекты исследований. Модельный комплекс (ассоциация, конгломерат): агарикоидные базидиомицеты из эколого-трофической группы «микоризообразователи» (микобионт, грибной компонент) и *Picea abies* (фитобионт, растительный компонент).

Модельный комплекс оценивается как «эктотрофная микориза», оказавшая наиболее глубокое воздействие на эволюцию растительных сообществ. В данном случае рассматриваются конгломераты с гистотропным мицелием, специализированным к определенным типам клеток и тканям корня. Это является четким диагностическим признаком для разграничения микоризы от псевдомикоризы и грибных паразитических инфекций [1].

Результаты исследований

Схема установления положительного контакта грибного и растительного компонентов.

В пелтонах формируется аденилатциклазная активность при внедрении грибного компонента. Из АТФ образуется цАМФ+ФФ, который переводит протеинкиназу из неактивной формы в активную с последующей инициацией фосфорилирования белков. Данный возможный биохимический процесс показан на рисунке 1.



Рисунок 1 – Схема работы аденилатциклазной активности в активных центрах на мембране пелтона

Хитиназы растительного компонента расщепляют хитин и хитозан грибного компонента до мономеров N-ацетилглюкозамина с последующим присоединением к созревающим белкам эндоплазматического ретикулума в цис-зоне аппарата Гольджи. Небольшие цепи N-ацетилглюкозамина (до восьми звеньев) уже не воспринимаются растительным компонентом как элиситоры и могут быть использованы для изменения свойств целлюлозы в клетках фитобионта, избегая возникновения стрессовой реакции [20]. Далее, небольшие цепи соединений белка с N-ацетилглюкозамином транспортируются везикулами в цитоплазматическую мембрану, где в результате экзоцитоза высвобождают свое содержимое в межклеточное пространство, сливаясь с цитоплазматической мембраной [21]. N-ацетилглюкозамин встраивается между полисахаридами клеточной стенки, тем самым меняя её архитектуру, стимулируя одновременно образование боковых корней [22; 23]. Морфологически это приводит к изменениям в пространственном распределении

корневой системы в модельном объекте *Picea abies* (L.) Н. Karst [24]. Изменения баланса ионов Na^+ и питательных веществ стимулируют нарушения процессов суберинизации [25]. Выделяемые микобиотом элиситоры инициируют вывод ионов K^+ из апопласта у фитобионта, тем самым вызывая их дефицит и замедление процесса суберинизации [3]. Данный факт объясняет наличие транспортных путей радиального тока сахаров из осевого цилиндра к экзодерме в корневых окончаниях *Picea abies* через пропускные клетки в эндодерме к мантии. Таким образом, грибной компонент транспортирует сахара из осевого цилиндра корневого окончания по апопластному пути. Возле направленного тока углеводов, в соседних клетках в мезодерме наблюдается скопление пелотонов и усиление суберинизации клеток. Возможный молекулярный механизм которой представлен на рисунке 2.

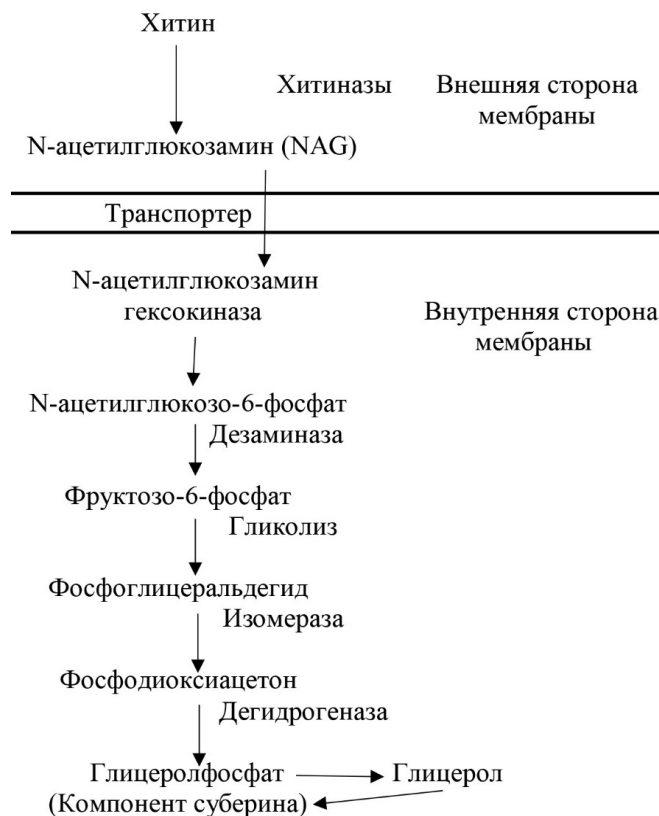


Рисунок 2 – Возможная схема образования компонентов суберина из N-ацетилглюкозамина

Показанный на рисунке 2 путь преобразования компонентов хитина в элементы суберина у фитобионтов имеет элементы подобия и у бактериальных организмов [26].

Апопластический транспорт регулирует образование ламелл суберина [3]. Поступление сахаров из осевого цилиндра к периферии в радиальном сечении корневого окончания является причиной дефекта в виде многоуровневой суберинизации тканей и активации системы SGN/CIFs у соседних с радиальным током углеводов клеток. Сигнальный путь SGN/CIFs контролирует образование суберина. Роль дефекта суберинизации не ясна [25].

Характерной особенностью клеточных стенок растительного компонента в зоне сети Гартига является наличие на них кислых инвертаз, расщепляющих сахарозу до простых сахаров в апопластном компартменте [27]. Эти простые сахара могут быть усвоены грибными гифами [28]. Работа таких ферментов, углеводного метаболизма, играет важную роль в формировании устойчивости к воздействию биотических и абиотических стрессовых факторов [29]. Важную роль, скорее всего, играет тип инвертаз, связанных с клеточной стенкой и расщепляющих сахара в апопласте (апопластические инвертазы) [30]. Активность кислых инвертаз в значительной степени регулируется стрессовыми факторами [31; 32; 33].

В своей работе мы провели анатомо-морфологические исследования авторских микрофотографий и выявили следующее: наличие транспортных путей; выборочную суберинизацию клеток корневого окончания, значение пропускных клеток, скопление пелтонов в активных центрах первичной коры. Результаты представлены на оригинальных рисунках-фотографиях 3, 4, 5, 6.

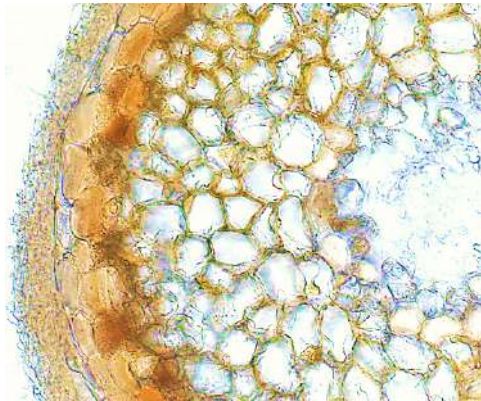


Рисунок 3 – Скопченность пелтонов и арбускул между радиальными транспортными путями

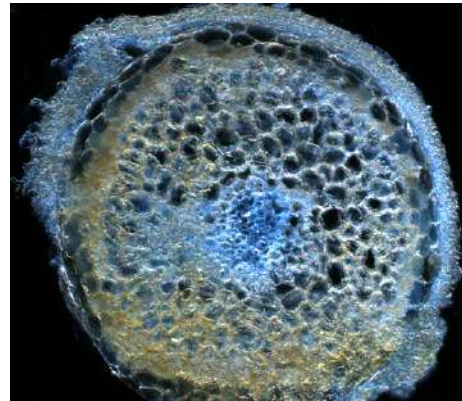


Рисунок 4 – Радиальный поток углеводов из осевого цилиндра через пропускные клетки к периферии корня



Рисунок 5 – Выборочная суберинизация эндодермы и мезодермы. Наличие радиальных «путей» тока углеводов из стели к периферии корневого окончания

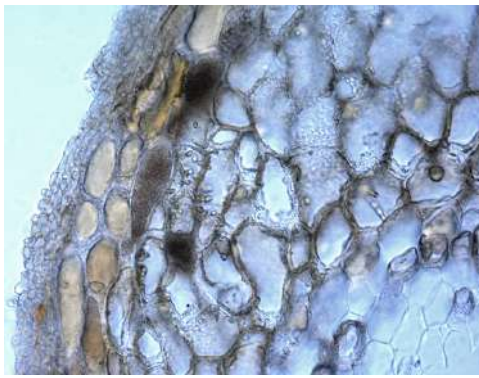


Рисунок 6 – Пропускные клетки в эндодерме, через которые происходит радиальный ток углеводов к мезодерме. Скопление пелтонов и суберинизация у примыкающих к радиальному току клетках мезодермы

Схема установления отрицательного контакта грибного и растительного компонентов.

Активация кислых фосфатаз при определенных условиях на мембранах пелотонов ведет к нарушению АТФ-азной активности через катализацию дефосфорилирования субстратных белков. Хитиновые элиситоры микобионта переводятся растительными хитиназами в олигомеры N-ацетилглюкозамина (более восьми звеньев), тем самым выключая аденилатциклазную активность на мембранах пелотонов.

Изменения в фосфорилировании белков могут инактивироваться внеклеточными хитиназами и глюканазами растительного компонента и разрушение хитиновых элиситоров грибного компонента предотвращает индукцию выброса ионов калия и хлора, защелачивание внеклеточного пространства и синтез перекиси водорода клетками *Picea abies* [15; 34]. В этом случае предотвращается распознавание микобионта, не происходит установление симбиоза.

Заключение

Таким образом, на примере системы «*Picea abies* – эктомикоризные грибы» мы впервые описали процесс установления консортивных связей в апопластном пространстве, используя анатомические исследования авторских микрофотографий.

Логично предположить, что суберинизация играет роль контролирующего фактора в проникновении микобионта. Данный процесс, по-видимому, регулируется молекулярными механизмами (АТФ-азной активностью, специфическим действием хитиназ, которое формирует определенную длину фрагментов, состоящих из N-ацетилглюкозамина).

Таким образом, можно сделать заключение, что факт положительного консортивного контакта приводит к формированию четко выраженных транспортных путей грибного компонента вследствие изменения обычного объема и формы паренхимных клеток и межклетников коры в корневом микоризном окончании. Образование пелотонов связано со стрессовыми процессами в системе «*Picea abies* – эктомикоризные грибы». Работа кислых инвертаз связана с наличием транспортных гифальных путей, поставляющих сахара из осевого цилиндра к периферии, что наблюдается на поперечных срезах микоризных корневых окончаний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. **Каратыгин, И. В.** Коэволюция грибов и растений / И. В. Каратыгин. – Санкт-Петербург : Гидрометеониздат, 1993. – 115 с.
2. **Колмаков, П. Ю.** Эколого-ценотическая характеристика *Russula exalbicans* (Pers.) Melzer & Zvára в растительных сообществах дубово-темнохвойных лесов Белорусско-Валдайского поозерья / П. Ю. Колмаков, О. В. Созинов // Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. Сер. 5. Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія. – 2023. – Т. 13. – № 1. – С. 98–106.
3. **Barberon, M.** Adaptation of root function by nutrient-induced plasticity of endodermal differentiation / M. Barberon, J.E.M. Vermeer, D. De Bellis et al. // Cell. – 2016. – 164. – P. 447–459.
4. **Barberon, M.** Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium / M. Barberon, N. Geldner // Plant Physiology. – 2014. – Vol. 166 (2). – P. 528–537.
5. **Andersen, T.G.** Suberization – the second life of endodermal cell / T.G. Andersen, M. Barberon, N. Geldner // Current Opinion in Plant Biology. – 2015. – Vol. 28. – P. 9–15.
6. **Taylor, D. L.** Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants / D. L. Taylor, T. D. Bruns, J. R. Leake et al. // Mycorrhizal Ecology. Ecological Studies. – Berlin, 2002. – Vol. 157. – P. 375–413.
7. **Воронина, Е. Ю.** Микозы в наземных экосистемах: экологические, физиологические и молекулярно-генетические аспекты микоризных симбиозов / Е. Ю. Воронина // Микология сегодня. – Москва : Национальная академия микологии, 2007. – Т. 1. – С. 142–234.

8. **David, L. N.** Lehninger principles of biochemistry / L. N. David, M. M. Cox. – W.H. Freeman, 2004. – P. 1100.
9. **Peterson, R. L.** Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces / R. L. Peterson, H. B. Massicotte // Canadian Journal of Botany. – 2004. – Vol. 82. – P. 1074–1088.
10. **Казнина, Н. М.** Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства *Poaceae* к тяжелым металлам: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук: 03.01.05 / Н. М. Казнина. – Петрозаводск, 2016. – 358 с.
11. **Mills, R. F.** Functional expression of AtHMA4, a P-1B-type ATPase of the Zn/Co/Cd/Pb subclass / R. F. Mills, G. C. Krijger, P. J. Baccarini et al. // The Plant Journal. – 2003. – V. 35(2). – P. 164–176.
12. **Albrecht, C.** Chitinase and peroxidase activities are induced in Eucalyptus roots according to aggressiveness of Australian ectomycorrhizal strains of *Pisolithus* sp. / C. Albrecht, T. Burgess, B. Dell et al. // New Phytologist. – 1994. – Vol. 127. – P. 217–222.
13. **Harrison, M. J.** Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis / M. J. Harrison // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. – 1999. – Vol. 50. – P. 361–389.
14. **Salzer, P. A.** A mycorrhiza-inducible plant chitinase accelerates the life cycle of arbuscular mycorrhizal fungi / P. Salzer, M. Elfstrand, A. Wiemken et al. // Biology of Plant-Microbe Interactions. – 2004. – Vol. 4. – P. 464–467.
15. **Martin, F.** Developmental cross talking in the ectomycorrhizal symbiosis: signals and communication genes / F. Martin, S. Duplessis, F. Ditegou et al. // New Phytologist. – 2001. – Vol. 151. – P. 145–154.
16. **Vanholme, B.** Accumulation of N-acetylglucosamine oligomers in the plant cell wall affects plant architecture in dose-dependent and conditional manner / B. Vanholme, R. Vanholme, H. Turumtay et al. // Plant Physiology. – 2014. – Vol. 165. – Issue 1. – P. 290–308.
17. **Miya, A.** CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis / A. Miya, P. Albert, T. Sninya et al. // Plant Biology. – USA: PNAS, 2007. – Vol. 104. – № 49. – P. 19613–19618.
18. **Kamel, M.** Inhibition of elastase enzyme release from human polymorphonuclear leukocytes by N-acetyl-galactosamine and N-acetyl-glucosamine / M. Kamel, M. Hanafi, M. Bassiouni // Clinical and Experimental Rheumatology. – 1991. – Vol. 9. – № 1. – P. 17–21. – PMID 2054963.
19. **Ченцов, Ю. С.** Цитология с элементами клеточной патологии / Ю. С. Ченцов. – М. : «Медицинское информационное агентство», 2010. – 361 с.
20. **Liu, T.** Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor / T. Liu, Z. Liu, Ch. Song et al. // Science. – 2012. – Vol. 336 (6085). – P. 1160–1164.
21. Устройство и функционирование эндоплазматического ретикулума и Аппарата Гольджи [Электронный ресурс] / Химический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова. 2023. – Режим доступа: <https://www.chem.msu.ru/rus/teaching/kolman/224.htm>, свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус.
22. **Cosgrove, D. J.** Growth of the plant cell wall / D. J. Cosgrove // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – Vol. 6. – 2005. – P. 850–861.
23. **Kumpf, R. P.** Floral organ abscission peptide IDA and its HAE/HSL2 receptors control cell separation during lateral root emergence / R. P. Kumpf, S. Chun-Lin, A. Larrieu et al. // Biological Sciences. – USA: PNAS, 2013. – Vol. 110 (13). – P. 5235–5240.
24. **Колмаков П. Ю.** Структурные особенности индивидуальной консорции / П. Ю. Колмаков, Е. В. Антонова // Веснік ВДУ. – 2019. – № 2 (103). – С. 36–44.
25. **Shukla, V.** Suberin plasticity to developmental and exogenous cues is regulated by a set of MYB transcription factors / V. Shukla, J.-P. Han, F. Cleard et al. // Plant Biology. – 2021. – Vol. 118. – № 39. – P. 1–11.
26. **Ansari, S.** N-acetylglucosamine sensing and metabolic engineering for attenuating human and plant pathogens / S. Ansari, V. Kumar, D. N. Bhatt et al. // Bioengineering. – 2022. – Vol. 9 (64). – P. 1–15.
27. **Elliott, K. J.** Isolation and characterization of fruit vacuolar invertase genes from two tomato species and temporal differences in mRNA levels during fruit ripening / K. J. Elliott, W. O. Butler, C. D. Dickinson et al. // Plant Molecular Biology. – 1993. – V. 21. – P. 515–524.
28. **Nehls, U.** Carbohydrate metabolism in ectomycorrhizas: gene expression, monosaccharide transport and metabolic control / U. Nehls, S. Mikolajewski, E. Magel et al. // New Phytologist. – 2001. – Vol. 150. – P. 533–541.
29. **Draffehn, A. M.** Natural diversity of potato (*Solanum tuberosum*) invertases / A. M. Draffehn, M. Sebastian, L. Li et al. // BMC Plant Biol. – 2010. – V. 10. – P. 271–286.
30. **Ji, X.** Structure, evolution, and expression of the two invertase gene families of rice / X. Ji, W. Van den Ende, A. Van Laere et al. // Molecular Evolution. – 2005. – V. 60 (5). – P. 615–634.
31. **Koch, K.** Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development / K. Koch // Current Opinion Plant Biology. – 2004. – V. 7. – P. 235–246.

32. **Ruan, Y-L.** Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat / Y-L. Ruan, Y. Jin, Y-J. Yang et al. // *Molecular Plant*. – 2010. – V. 3. – P. 942–955.

33. **Albacete, A.** Trick and treat: A review on the function and regulation of plant invertases in the abiotic stress response / A. Albacete, D. K. Grosskinsky, T. Roitsch // *Phyton – Annales Rei Botanicae*. – 2011. – V. 50. – P. 181–204.

34. **Harrison, M. J.** Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis / M. J. Harrison // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 1999. – Vol. 50. – P. 361–389.

Поступила в редакцию 5.09.2023 г.

Контакты: pavel_kolmakov@list.ru (Колмаков Павел Юрьевич, Жерносеков Дмитрий Данилович).

Kolmakov P. Yu., Zhernosekov D. D. THE PROCESS OF SUBERIZATION AND METABOLISM OF N-ACETYLGLUCOSAMINE IN A CONSORTIVE RELATIONSHIP “PICEA ABIES – ECTOMYCORRHIZAL FUNGI”

In the process of evolution, plants have developed mechanisms that allow them to respond differentially to the penetration of the fungal component and the establishment of consort relationships. Due to the processes of suberization and desubерization, phytobionts are able to regulate the supply of nutrients to the mycobiont (fungal component). The article considers possible molecular aspects of regulation of suberization in the area of membrane contacts between phytobiont and mycobiont and the N-acetylglucosamine (NAG) pathway on the model system “Picea abies (L.) H. Karst. – ectomycorrhizal fungi”. It is concluded that suberization of root terminal cells affects the supply of nutrients through the radial apoplastic pathway.

Keywords: molecular mechanism, N-acetylglucosamine, adenylate cyclase, chitinases, chitin elicitors, pelotons, mycorrhiza, suberization.