

РОЛЬ ОМИЧЕСКОЙ И СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ В ПОНИМАНИИ ОТВЕТНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ РЕАКЦИЙ У РАСТЕНИЙ

М.Н. Кондратьев, Ю.С. Ларикова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, minikondr39@mail.ru

Аннотация. Обсуждается роль омической и системной биологии в раскрытии механизмов устойчивости растений к неблагоприятному воздействию абиотических факторов среды. Подчёркивается особая роль технологий Omics (транскриптомики, протеомики, метаболомики), а также взаимодействий ДНК-белок, белок-белок в обеспечении понимания функций генов при их влиянии на фенотипические изменения в конкретном биологическом контексте. Глобальный анализ данных, полученных с помощью технологий Omics, должен интегрироваться на базе биоинформатики. Выявлена специфика ответных реакций растений на абиотические стрессы, так как реакция молекулярных механизмов растений включает взаимодействия со многими обменными процессами. Растения, испытывающие воздействие засухи, в большей степени индуцируют процессы, необходимые для осмотической корректировки и защите от АФК и фотоингибирования, тогда как действие засоления в большей степени активизирует реакции, связанные с энергетическим обменом, переносом ионов, синтезом и обменом белков. Отмечается, что, хотя имеются определённые достижения в исследовании действия стрессирующих факторов на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях, их явно недостаточно при выявлении эффекта абиотического стресса на уровне целого растения и в растительных сообществах, что является прерогативой системного подхода в биологии.

Ключевые слова: абиотический стресс, omics, транскриптомика, протеомика, метаболомика

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-430-434

В течение последнего десятилетия подходы «редукционистской» молекулярной биологии и функциональной биологии постепенно заменяются «целостным» подходом системной биологии. Однако молекулярная биология и системная биология являются фактически взаимозависимыми и взаимодополняющими способами изучения и понимания сложных явлений живых организмов [Cramer et al., 2011]. В настоящее время использование и разработка постгеномных методологий, таких как глобальный анализ транскриптов, протеомов и метаболитов, интегрированных на базе биоинформатики, заметно изменило наши знания и целостное понимание различных функций растений, включая реакцию на абиотические стрессы [Mochida, Shinozaki, 2011]. Системный анализ может включать в себя несколько уровней сложности, начиная от отдельных органелл или клеток, тканей, органов до целых организмов. Эти переменные могут сочетаться с несколькими этапами развития и взаимодействиями окружающей средой, что ещё более усложняет описание ответных реакций растений на действие абиотических стрессов [Cramer et al., 2011].

Прорыв в технологиях Omics привел к разработке новых экспериментов, которые обеспечивают глубокое понимание функции генов, а также их влияние на фенотипические изменения в конкретном биологическом контексте [Jogaiah et al., 2012]. Подходы к системной биологии могут обойти некоторые барьеры, которые ранее блокировали получение знаний, полученных от модельных растений, таких как *Ambidopsis thaliana* и *Medicago truncatula*, к другим экономически важным видам растений в свете текущего прогресса в создании новых последовательностей генома и функциональных ресурсов генома. Предполагается, что эта тенденция сохранится и в

следующем десятилетии в свете текущих изменений в функциональных ресурсах сельскохозяйственных культур и ввиду экспоненциального числа публикаций, опубликованных по исследованиям абиотических стрессов в растениях, использующих подходы к системной биологии [Cramer et al., 2011].

Большинство подходов в системной биологии растений основываются на трех основных направлениях: транскриптомике, протеомике и метаболомике. Помимо этого, для идентификации регуляторных белков, участвующих в комплексных реакциях целого растения, успешно используются взаимодействия между ДНК-белок и белок-белок [Zhang, 2010]. Решающее значение во всех аспектах исследований, основанных на Omics, для эффективного управления различными типами наборов данных генома и получения ценной информации, облегчения обмена знаниями с другими модельными организмами, имеет биоинформатика [Mochida, Shinozaki, 2011].

Транскриптом обозначают полный набор транскриптов в данном организме или специфический набор транскриптов (молекул РНК), представленный в клетках определённого типа. Транскриптомика, называемая профилированием экспрессии, фиксирует пространственную и временную экспрессию гена в тканях растений или популяциях клеток в конкретном биологическом контексте (например, генотип, рост или состояние окружающей среды). Во многих случаях транскриптомический анализ используется для скрининга генов-кандидатов для программ смягчения абиотического стресса [Shinosaki, 2009] или для предсказания предполагаемой функции гена путем ассоциации экспрессированных или совместно выраженных генов в связи с изменением фенотипа растения [Franki et al., 2012]. Транскриптомические подходы должны включать высокоспецифичные, чувствительные и количественные измерения в большом динамическом диапазоне с целью идентификации изменений в структурах и последовательностях транскриптов [Lister et al., 2009]. В качестве примеров успешного использования транскриптомического анализа можно привести исследования с кассавой (*Manihot esculenta* Crantz) [Huang, et al., 2005] и нутом (*Cicer arietinum*) [Gunes et al., 2006].

Протеомику можно определить как науку, которая изучает протеом, то есть, количество белков, содержащихся в данной клетке, ткани, органе, организме или популяциях. Протеомика обычно ассоциируется с двумя типами исследований: 1) характеристика протеома, в которой идентифицированы все белки, выраженные в данной клетке, ткани, органе, организме или популяциях; и 2) дифференциальная протеомика, в которой протеом, например растение в условиях контроля, сравнивают с протеомом того же растения в условиях исследования, таким как воздействие дефицита тяжелого металла или воды, или, в другом примере, сравнение экспрессии белковых профилей между различными сортами пшеницы. Протеомика, преимущественно, использует два лабораторных метода: электрофорез белков (в частности, двумерный электрофорез и DIGE - разницу в гелевом электрофорезе) и идентификацию белка с использованием масс-спектрометрии. Протеомика (особенно дифференциальная протеомика) широко применяется для изучения влияния нескольких абиотических стрессов на органы и ткани растений. Так, как транскриптомика, так и протеомика использовались для изучения эффектов холодовых и солевых стрессов на листьях картофеля (*Solanum tuberosum*) [Evers, 2012]. Результаты позволили выявить ряд дифференцированных генов и белков при действии обоих стрессов. Интересно, что результаты воздействия солей показали сильную понижающую регуляцию генов, участвующих в первичном метаболизме, детоксикационном аппарате и трансдукции сигнала, тогда как при холодном воздействии гены с повышением и понижением уровнем действия были одинаковыми. Напротив, анализ протеома указывал на увеличение экспрессии почти каждого белка, за исключением тех, которые

функционируют в фотосинтетическом аппарате. Результаты этого исследования указывают не только на различия между экспрессией транскриптома и протеома под действием холодового и солевого стрессов, но также показывают, что анализ протеома имеет тенденцию быть более полным, чем анализ транскриптома.

Метод DIGE использовался для изучения эффектов высокого уровня УФ-излучения на листовой протеом артишока (*Cynara*), характеризующегося накоплением высокой концентрации индуцируемых антиоксидантов [Falvo et al., 2012]. Авторы наблюдали в общей сложности 145 белковых зон, из которых 111 были идентифицированы. Большинство белков были дифференциально модулированы, располагались в хлоропластах, принимали участие в фотосинтезе, метаболизме сахаров, в изменении структуры белков и стрессовых реакциях, что открывало новые возможности для понимания физиологических и метаболических изменений, вызванных воздействием ультрафиолетового излучения.

Эти и другие примеры [Farina et al., 2011] демонстрируют преимущества использования (дифференциальной) протеомики для изучения эффектов различных абиотических стрессов, таких как дефицит воды, температура или ультрафиолетовое облучение. Результаты показывают, что большое количество белков и метаболические пути, в которых они принимают участие, находятся под негативным воздействием абиотических стрессов. Преимущества протеомики еще больше подчеркиваются возможностью изучения пост-трансляционных модификаций (PTM), имеющих ключевое значение в физиологических и биохимических реакциях растений на стресс.

Метаболомика в отличие от обычных биохимических подходов использует методики, позволяющие анализировать практически всю совокупность метаболических реакций и продуктов. Растения имеют несколько метаболических путей, ведущих к образованию десятков тысяч вторичных метаболитов, способных эффективно реагировать на стрессовые ситуации, вызванные биотическими и абиотическими факторами. Эти пути, образуемые из продуктов основных процессов первичного метаболизма при первоначальном дублировании генов, часто ограничиваются конкретными таксономическими группами и играют важную роль при взаимодействии растений и окружающей среды [Nascimento, Fett-Neto, 2010]. Очевидно, что различные условия роста растений должны оказывать существенное влияние на синтез и накопление в их органах продуктов вторичного метаболизма. Наиболее серьезными угрозами для сельскохозяйственного производства, при воздействии на растения абиотических стрессовых факторов, являются засуха и засоление. Как правило, растения обладают способностью приспосабливать свой метаболизм к изменениям в окружающей среде. При произрастании в нормальных условиях они синтезируют комплекс вторичных продуктов, однако несколько факторов стресса могут привести к увеличению их производства. Установлено [Kleinwachter, Selmar, 2015], что в условиях стресса возникает значительный избыток восстановительных эквивалентов ($\text{НАДФ}\cdot\text{Н} + \text{Н}^+$), при этом количество вторичных метаболитов выше в растениях, сильно пострадавших от абиотического стресса, чем в растениях, выращенных в оптимальных условиях. Чтобы уменьшить повреждение АФК, $\text{НАДФ}\cdot\text{Н} + \text{Н}^+$ повторно окисляется с помощью фотодыхания и виолаксантинового цикла.

Реакции растений на абиотические стрессы являются динамическими и сложными и подразделяются на обратимые и необратимые. Одним из самых ранних метаболических ответов на действие абиотического стресса и последующее торможение роста является ингибирование синтеза белка [Good, Zaplachinski, 1994], нарушение третичной и четвертичной структуры белковых молекул [Liu, Howell, 2010]. По мере нарастания действия стресса также нарушается углеводный и липидный обмен

[Cramer et al., 2007]. Таким образом, существуют постепенное и комплексное изменение метаболизма в ответ на нарастающее действие стресса.

Реакция молекулярных механизмов растений на абиотические стрессы включает взаимодействия со многими обменными процессами. Одним из самых ранних сигналов при действии многих абиотических стрессов являются АФК (ROS) и активные виды азота (RNS), которые модифицируют активность ферментов и регуляцию генов [Mittler, et al., 2011]. ROS и RNS образуют согласованный комплекс, который регулирует многие реакции растений на окружающую среду. Существует большое количество исследований окислительных эффектов ROS на реакции растений в ответ на абиотические стресс, но имеются лишь единичные работы, в которых описываются нитрозативные эффекты RNS [Molassiotis, Fotopoulos, 2011].

Интеграция данных транскриптомики и метаболомики позволяет идентифицировать различия в ответных реакциях на тот или иной абиотический стресс. Было выявлено, растения, испытывающие воздействие засухи, в большей степени индуцируют процессы, необходимые для осмотической корректировки и защите от АФК и фотоингибирования. Действие засоления в большей степени активирует реакции, связанные с энергетическим обменом, переносом ионов, синтезом и обменом белков [Cramer et al., 2007].

Сопоставление ответных реакций при действии различных абиотических факторов обеспечило новое понимание механизмов их протекания в растительной клетке. Тем не менее, требуется гораздо больше исследований для составления полной картины реакции растений на абиотический стресс. Характер и способы ответов будут в сильной степени зависеть от вида, органа, изучаемых тканей, типа клеток, этапа развития растения, а также от вида стресса (стрессов), действующего на растение, его уровня и продолжительности. Несмотря на огромное количество исследований, посвящённых абиотическому стрессу в последнее десятилетие, в наших знаниях по-прежнему существуют значительные пробелы. Как следует из настоящего обзора, есть определённые достижения в исследовании действия стрессирующих факторов на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях, но их явно недостаточно при выявлении эффекта абиотического стресса на уровне целого растения и в растительных сообществах.

Литература

Cramer G., Ergul A., Grimplet J., Tillett R., Tattersall A., Bohlman M., Vincent D., Sonderegger J., Evans J., Osborne C., Quilici D., Schlauch K., Schooley D., Cushman J. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles // *Funct. Integr. Genomics*. – 2007. – V. 7. – P. 111–134.

Cramer G.R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M., Shinozaki K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective // *BMC Plant Biology*. – 2011. – V. 11. – P. 163.

Falvo S., Di Carli M., Desiderio A., Benvenuto E., Moglia A., America T., Lanteri S., Acquadro A. 2-D DIGE analysis of uv-c radiation-responsive proteins in globe artichoke leaves // *Proteomics*. – 2012. – V. 12. – P. 448–460.

Farinha A.P., Irar S., de Oliveira E., Oliveira M.M., Pages M. Novel clues on abiotic stress tolerance emerge from embryo proteome analyses of rice varieties with contrasting stress adaptation // *Proteomics*. – 2011. – V. 11. – P. 2389–2405.

Francki M.G., Crawford A.C., Oldach K. Transcriptomics, proteomics and metabolomics: integration of latest technologies for improving future wheat productivity // In: Benkeblia N. (ed.) *Sustainable Agriculture and New Technologies*. – Boca Raton: CRC Press, 2012. – P. 425–452.

Good A., Zaplachinski S. The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus* // *Physiol Plant*. – 1994. – V. 90. – P. 9–14.

Gunes A., Cicek N., Inal A., Alpaslan M., Eraslan F., Guneri E., Guzelordu T. Genotypic response of chickpea (*dear arietinum* l.) cultivars to drought stress implemented at pre- and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency // Plant and Soil Environment. – 2006. – V. 52. – P. 368–376.

Huang L., Ye Z., Bell R.W., Dell B. Boron nutrition and chilling tolerance of warm climate crop species // Annals of Botany. – 2005. – V. 96. –P. 755–767.

Jogaiah S., Govind S.R., Tran L.S.P. Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops // Critical Reviews in Biotechnology. – 2012. *In Press* (DOI: 10.3109/07388551.2012.659174).

Kleinwachter M., Selmar D. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications // Agron. Sustain. Dev. – 2015. – V. 35. – P. 121.

Lister R., Gregory B.D., Ecker J.R. Next is now: new technologies for sequencing of genomes, transcriptomes and beyond // Current Opinion in Plant Biology. – 2009. – V. 12. – P. 107–118.

Liu J., Howell S. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants // Plant Cell. – 2010. – V. 2. – P. 2930–2942.

Mochida K., Shinozaki K. Advances in omics and bioinformatics tools for systems analyses of plant functions // Plant Cell Physiology. – 2011. – V. 52. – P. 2017–2038.

Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van B. ROS signaling: the new wave? // Trends Plant Sci. – 2011. – V. 16. – P. 300.

Molassiotis A., Fotopoulos V. Oxidative and nitrosative signaling in plants: two branches in the same tree? // Plant Signal Behav. – 2011. – V. 6. – P. 210–214.

Nackimento N., Fett-Neto A. Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview // Methods Mol Biol. – 2010. – V. 54. – P. 1–13.

THE ROLE OF OMICS AND SYSTEM BIOLOGY IN UNDERSTANDING THE RESPONSE OF ABIOTIC STRESS REACTIONS IN PLANTS

M.N. Kondratyev, Yu.S. Larikova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Russian Timiryazev State Agrarian University”, Moscow, Russia, *minikondr39@mail.ru*

Abstract. The role of omic and system biology in revealing the mechanisms of plant resistance to the adverse effects of abiotic environmental factors is discussed. The special role of Omics technologies (transcriptomics, proteomics, metabolomics), as well as DNA-protein, protein-protein interactions in providing understanding of gene functions in their influence on phenotypic changes in a particular biological context is emphasized. Global analysis of data obtained by Omics technologies should be integrated on the basis of bioinformatics. The specificity of plant responses to abiotic stresses is revealed, since the reaction of molecular mechanisms of plants includes interactions with many metabolic processes. Plants experiencing drought, to a greater extent induce the processes required for osmotic adjustment and protection against ROS and photoinhibition, whereas the effect of salinity to a greater extent activates reactions related to energy metabolism, ion transport, synthesis and metabolism of proteins it is Noted that, although there are certain achievements in the study of the action strassenmusik factors at the molecular, subcellular, and cellular levels, they are clearly insufficient in identifying the effect of abiotic stress at the level of the whole plant and in plant communities, that is the prerogative of the system approach in biology.

Keywords: *abiotic stress, omics, transcriptomics, proteomics, metabolomics*