

ВЛИЯНИЕ NO НА СОСТОЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОГО КОМПЛЕКСА В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Д.Р. Масленникова, Ч.Р. Аллагулова, А.А. Плотников, Ф.М. Шакирова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, shakirova@anrb.ru

Аннотация. В данной работе было обнаружено, что в реализации протекторного действия SNP на растения пшеницы вносит его способность позитивно регулировать накопление глутатиона восстановленного (GSH), активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в условиях нарушения водного режима.

Ключевые слова: *Triticum aestivum L.*, глутатион, глутатионредуктаза, глутатион-S-трансфераза, хлорид натрия

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-506-509

Оксид азота (NO) является внутриклеточной сигнальной молекулой, вовлекаемой в регуляцию фундаментальных физиологических процессов, протекающих на всех этапах жизненного цикла растений [Nawas et al., 2017]. Наряду с этим оксид азота играет важную роль в формировании устойчивости растений к стрессовым факторам абиотической и биотической природы [Liu et al., 2013; Nawas et al., 2017]. На разных растительных объектах четко продемонстрировано проявление защитных свойств NO при воздействии засухи и осмотиков, засоления тяжелых металлов, изменения температурного режима, УФ-излучения [Liu et al., 2013], однако механизмы, лежащие в основе защитного действия NO на растения, пока в полной мере не изучены [Lie et al., 2013; Масленникова др., 2017]. В ходе предыдущих исследований нами было выявлено, что предобработка проростков SNP в условиях засоления способствует предотвращению вызываемого 2% NaCl падению концентрации цитокининов в растениях пшеницы [Масленникова и др., 2017]. Важный вклад в формирование устойчивости растений к стрессам вносит неферментативный антиоксидант клетки – глутатион и основные ферменты глутатионового комплекса – глутатионредуктаза (ГР) и глутатион – S-трансфераза (ГСТ), в регуляцию синтеза и активности которых, как известно, вовлекается оксид азота [Mello et al., 2012; Shan, Dong et al., 2017]. Известно, что в условиях засоления опрыскивание растений турецкого гороха SNP способствует значительному накоплению GSH и дополнительной активации глутатионредуктазы, что выражается в снижении уровня окислительного стресса в листьях этих растений [Sheokand et al., 2010], вместе с тем в литературе имеются сведения о снижении активности ГР в корнях предобработанных SNP проростков пшеницы в условиях кадмиевого стресса [Singh et al., 2008]. Это свидетельствует о том, что оксид азота способен в зависимости от используемых концентраций вызывать как стимуляцию, так и ингибирование активности антиоксидантных ферментов, а также уровня экспрессии кодирующих их генов [Карпец, 2017].

Цель данной работы состояла в выявлении роли компонентов глутатионового комплекса в проявлении защитного действия SNP на проростках пшеницы в условиях натрий хлоридного засоления.

Работу проводили на корнях 4-суточных проростков пшеницы *Triticum aestivum L.* сорта Салават Юлаев. Семена после стерилизации 96% этанолом проращивали в кюветах на фильтровальной бумаге в течение 3 суток (16-часовой световой фотопериод, 15 клк, 22-24 °С). После отделения эндосперма часть 3-суточных проростков помещали в стаканы с 2% раствором сахарозы, содержащим 200 мкМ SNP

на 24 ч, другая часть изолированных проростков инкубировали на растворе 2% сахарозы. Далее 4-сут необработанные и обработанные SNP проростки переносили на смесь 2% сахарозы и 2% NaCl на разные промежутки времени. Контролем во всех опытах служили проростки, инкубированные на растворе 2% сахарозы.

Содержание восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона из одной растительной навески определяли с помощью спектрофлуорометрического метода, основанного на получении флуоресцирующего продукта *o*-фталевого альдегида в зависимости от pH среды [Шалыго и др., 2007]. Активность глутатионредуктазы и глутатион-S- трансферазы определяли согласно [Акулов и др., 2012]. Содержание белка определяли по методу Бредфорд [Bradford, 1976]. На рисунках представлены данные средних арифметических двух – трех независимых опытов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях, и стандартные ошибки средних.

Воздействие 2% NaCl приводило к развитию окислительного стресса и значительному истощению восстановленной формы глутатиона и преобладанию его окисленной формы, о чем свидетельствует обнаруженное двукратное падение показателя соотношения GSH/GSSG в корнях проростков пшеницы (рис. 1).

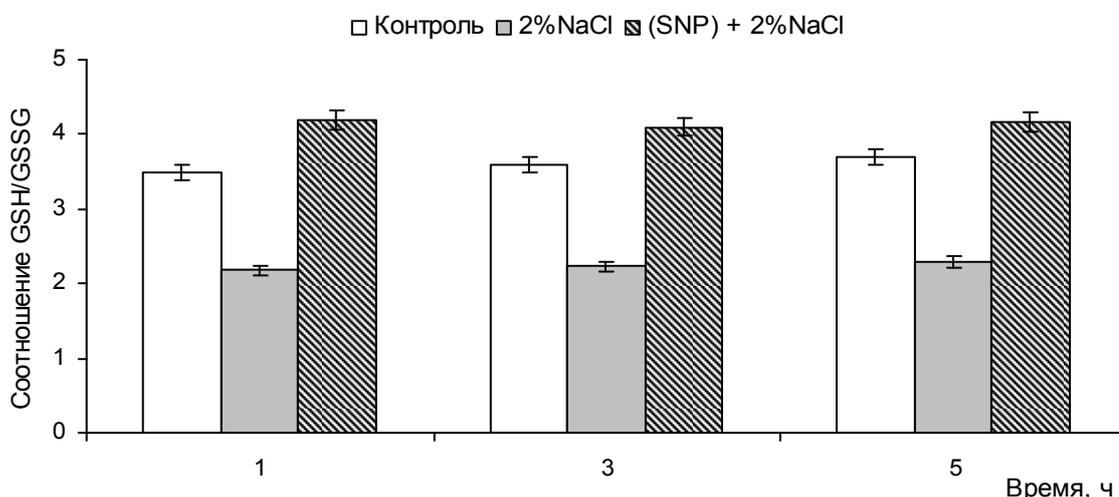


Рис. 1. Показатель соотношения GSH/GSSG в корнях предобработанных в течение 24 ч SNP 4-сут проростков в ходе воздействия 2% NaCl.

Предобработка проростков SNP в условиях засоления способствовала не только поддержанию соотношения GSH/GSSG в корнях, но и дополнительному накоплению GSH на протяжении всего опыта (рис. 1). Полученные результаты указывают на способность SNP поддерживать повышенное содержание GSH при стрессе, вероятно, посредством регуляции активности глутатионредуктазы, ключевого фермента, участвующего в НАДФ(Н)-зависимой реакции восстановления GSSG в GSH в стрессовых условиях [Sheokand et al., 2010]. Воздействие натрий хлоридного засоления привело к увеличению активности ГР более, чем в два раза (рис. 2), тогда как предобработанные SNP растения характеризовались дополнительной, на 30-35%, активацией этого фермента относительно необработанных проростков в этих условиях, что свидетельствует о способности SNP позитивно регулировать активность этого фермента в условиях стресса (рис. 2).

Таким образом, накопление GSH и дополнительная активация фермента ГР в предобработанных SNP проростках в условиях засоления способствует поддержанию в клетке восстановленной формы глутатиона, вносящей важный вклад в снижение уровня повреждающего действия натрий хлоридного засоления на растения.

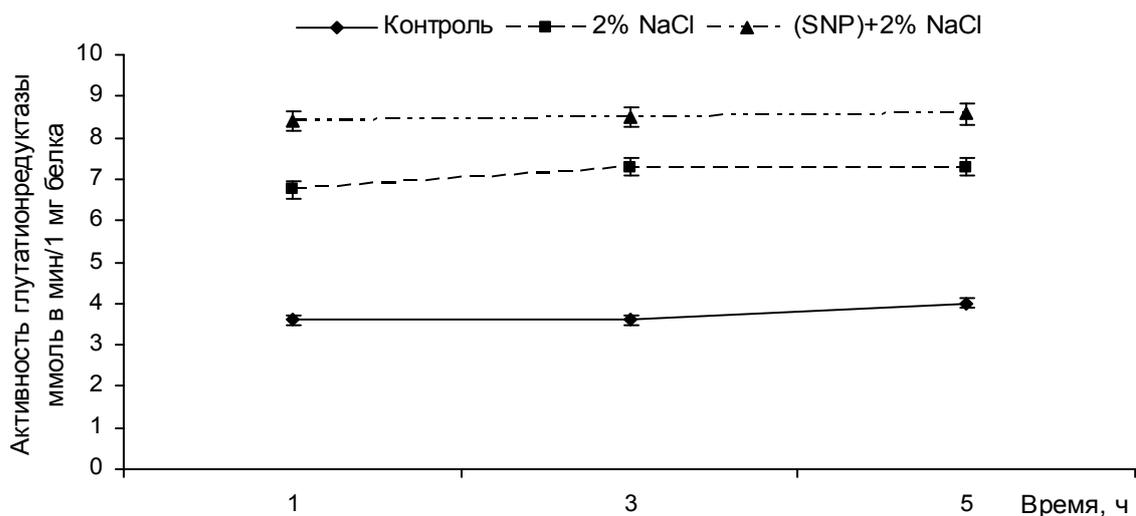


Рис. 2. Активность глутатионредуктазы в корнях предобработанных в течение 24 ч SNP 4-дневных растений в ходе воздействия 2% NaCl.

Известно, что глутатион-S-трансфераза играет ключевую роль в защите растений от окислительного стресса [Карпец, 2017].

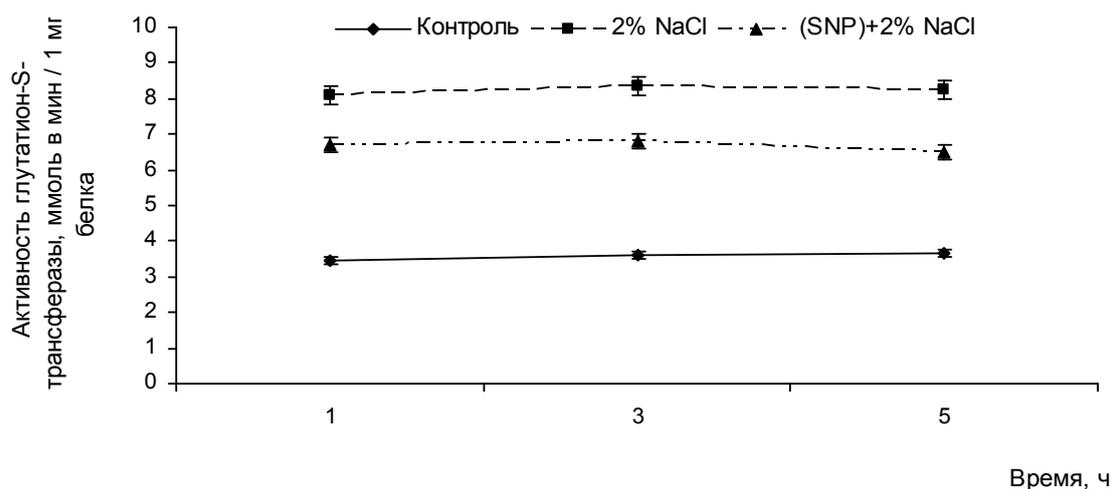


Рис. 3. Активность глутатион-S-трансферазы в корнях предобработанных в течение 24 ч SNP 4-дневных растений в ходе воздействия 2% NaCl.

Анализ активности глутатион-S-трансферазы в необработанных SNP проростках пшеницы в условиях засоления выявил более чем двукратную активацию этого фермента (рис. 3). В корнях предобработанных SNP проростков активность глутатион-S-трансферазы поддерживалась на заметно меньшем уровне, что служит показателем меньшей степени повреждающего действия стресса на эти проростки.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности обработки растений донором оксида азота с целью повышения устойчивости пшеницы к натрий хлоридному засолению, в формировании которой важный вклад вносит способность SNP позитивно регулировать соотношение GSH/GSSG, активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

Акулов А.Н., Гумерова Е.А., Костюкова Ю.А., Никанорова Н.А., Румянцева Н.И., Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений. – Казань: Казанский университет, 2012. – 51 с.

Карпец Ю.В. Роль ионов кальция и активных форм кислорода в индуцировании антиоксидантных ферментов и теплоустойчивости растительных клеток донором оксида азота // Вестник Харьковского Национального Аграрного Университета. – 2017. – Вып. 3, № 4. – С. 52–61.

Масленникова Д.Р., Аллагулова Ч.Р., Федорова К.А., Плотников А.А., Авальбаев А.М., Шакирова Ф.М. Вклад цитокининов в реализацию рост-стимулирующего и протекторного действия оксида азота на растения пшеницы // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 5. – С. 355–363.

Шальго Н.В., Щербakov Р.А., Доманская И.Н., Радюк М.С. Спектрофлуориметрический метод определения окисленного и восстановленного глутатиона в растениях // Физиология и биохимия культурных растений. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 264–270.

Bradford M.M. A rapid and sensitive methods for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – P. 248–254.

Liu W.-Z., Kong D.-D., Gu X.-X., Gao H.-B., Wang J.-Z., Xia M., Gao Q., Tiana L.-L., Xu Z.-H., Bao F., Hu Y., Ye N.-S., Pei Z.-M., He Y.-K. Cytokinins can act as suppressors of nitric oxide in Arabidopsis // PNAS. – 2013. – V. 110, No. 4. – P. 1548–1553.

Mello C.S., Hermes V.S., Guerra M.P., Arisi A.C.M. Sodium nitroprusside modulates gene expression involved in glutathione synthesis in *Zea mays* leaves // Biologia Plantarum. – 2012. – V. 6, No. 2. – P. 383–388.

Nawaz F., Shabbir R.N., Shabbaz M., Majeed S., Raheel M., Hassan W., Sohail M.A. Phytohormones – signaling mechanisms and crosstalk in plant development and stress responses // Intech. – 2017. – P. 117–141.

Shan C., Dong N. Nitric oxide donor SNP regulates the ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves through MEK1/2 // Biologia Plantarum. – 2017. – V. 61, No. 4. – P. 774–778.

Sheokand S., Bhankar V., Sawhney V. Ameliorative effect of exogenous nitric oxide on oxidative metabolism in NaCl treated chickpea plants // Brazilian Society of Plant Physiology. – 2010. – V. 22, No. 2. – P. 81–90.

Singh H.P., Batish D. R., Kaur G., Arora K., Kohli R. K. Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots // Environmental and Experimental Botany. – 2008. – V. 63. – P. 158–167.

EFFECT OF NO ON THE CONDITION OF THE COMPONENTS OF THE GLUTATHION COMPLEX UNDER SALINITY

D.R. Maslennikova, Ch.R. Allagulova, A.A. Plotnikov, F.M. Shakirova

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre RAS, Ufa, Russia, shakirova@anrb.ru

Abstract. In this work it was founded that in the realization protected SNP effect on wheat plants contributes its ability to positively regulate the accumulation of reduced glutathione, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activity under salinity.

Keywords: wheat, nitric oxide, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, salinity