

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ДЕФИЦИТУ ВЛАГИ

Д.Р. Масленникова, Ф.М. Шакирова

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

Дефицит влаги или засуха относится к одному из самых распространенных и критически значимых для растений неблагоприятных факторов окружающей среды, вызывающих резкое снижение качества и продуктивности многих сельскохозяйственных культур, включая пшеницу, которая является основной хлебной культурой нашей страны. Применение различных регуляторов роста с целью повышения устойчивости и урожайности пшеницы является актуальной задачей. Одним из кандидатов на роль регулятора роста растений, обладающим ярко выраженным антистрессовым эффектом претендует молекула оксида азота (NO), к которой интерес ученых, как физиологов растений и биохимиков не ослабевает уже более двух десятков лет. NO является внутриклеточной сигнальной молекулой, вовлекаемой в регуляцию основных физиологических процессов на всех этапах жизненного цикла растений, участвуя в регуляции прорастания семян, корнеобразования, гравитропизма, закрывания устьиц, цветения, созревания плодов, процессов старения [1]. Имеются сведения о способности NO повышать устойчивость растений к широкому спектру стрессовых воздействий биотической и абиотической природы [2, 3]. Защитный эффект доноров NO может быть основой для создания химических и биологических препаратов, повышающих устойчивость растений к дефициту влаги и другим абиотическим стрессорам.

Исследования физиологического и защитного влияния оксида азота на растительные объекты современны и по сей день, поскольку, несмотря на большой объем литературных данных о защитной роли оксида азота и механизмах действия NO как сигнальной молекулы в растительных организмах остается еще много неясного. Для изучения механизмов действия оксида азота на растительные организмы применяют различные доноры NO, такие как диэтиламин – NONO, S-нитрозоглутатион, N – ацетилпеницилламин [1], в своих исследованиях мы использовали нитропруссид натрия – sodium nitroprusside (SNP). В ходе предыдущих исследований была подобрана концентрация SNP – 200 мкМ, которая оказывала ростстимулирующее и антистрессовое действия на растения пшеницы, о которых судили по показателям роста и балансу фитогормонов проростков [4].

Цель работы – исследовать вклад неферментативных антиоксидантов клетки в формирование устойчивости в предобработанных и необработанных 200 мкМ SNP растениях пшеницы при действии 12 % ПЭГ, в связи с этим был проведен анализ содержания глутатиона восстановленного (GSH), аскорбата, МДА и состояния проницаемости клеточных мембран в этих проростках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили проростки пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Салават Юлаев. Семена стерилизовали 96 %-ным этанолом и проращивали на смоченной водопроводной водой фильтровальной бумаге при 21–23 °С, 16-часовом фотопериоде и освещенности 320 мкмоль/(м²·с) ФАР. 3-суточные проростки изолировали от эндосперма, часть проростков инкубировали 24 ч на растворе 1.5 %-ной сахарозы, содержащем в смеси 200 мкМ SNP, другую часть – только на 1.5 %-ной сахарозе. Затем обработанные и необработанные SNP 4-суточные проростки подвергали воздействию 12 %-го полиэтиленгликоля (ПЭГ), моделирующего условия нарушения водного режима. Контролем во всех вариантах опытов служили проростки, инкубированные на дистиллированной воде. Содержание восстановленного глутатиона – GSH, определяли с помощью спектрофлуориметрического метода основанного на получении флуоресцирующего продукта о-фталевого альдегида, о проницаемости клеточных мембран проростков судили по уровню выхода электролитов с использованием кондуктометра ОК 102/1 (Radex, Венгрия), измеряя омическое сопротивление водных экстрактов в постоянном токе [4]. Содержание аскорбата анализировали методом титрования [5]. Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по содержанию в проростках одного из конечных продуктов ПОЛ малонового диальдегида (МДА) применяя цветную реакцию с тиобарбитуровой кислотой [4].

На рисунках представлены данные средних арифметических трех–четырех независимых опытов, каждый из которых проведен в трех биологических повторах, и их стандартные ошибки. Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью дисперсионного анализа ANOVA, используя SPSS 13.0 для Windows (SPSS Inc., Chicago, IL USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания GSH и аскорбата показал, что дефицит влаги приводит к значительному падению уровня этих важнейших восстановителей растительной клетки на протяжении всего времени воздействия (рис. 1). Это является вполне ожидаемым, поскольку 12 % ПЭГ вызывает развитие окислительного стресса, о чем также свидетельствуют данные представленные на рис. 2. Такие реакции растений на нарушение водного режима вполне закономерны, поскольку окислительный стресс, вызванный действием 12 % ПЭГ истощает пул аскорбата и глутатиона, а также приводит к значительному накоплению МДА и нарушению баланса электролитов в тканях растений (рис. 1, 2). Предобработка SNP практически предотвращала стресс – индуцированное истощение пула GSH (рис. 1б) и способствовала не только поддержанию, но и дополнительному накоплению аскорбата в них, которое наблюдается в первые часы воздействия стресса (рис. 1а). Это свидетельствует о том, что оксид азота способен регулировать содержание аскорбата и глутатиона в стрессовых условиях, что отражается в стабилизации антиоксидантной системы и роста растения в целом (данные не приведены). Хорошо известно, что глутатион является ключевой молекулой в регуляции протекания клеточного цикла – митоза [6], а аскорбиновая кислота – в период формирования и роста зародышевой корневой системы проростков ярового ячменя [7], что в целом определяет важную роль этих антиоксидантов в регуляции роста и развитии растений. Важным показателем физиологического состояния клетки является показатели целостности мембранных структур, воздействие стресса вызвало сильно выраженный повреждающий эффект о котором судили по существенному увеличению содержания МДА и выходу электролитов из тканей (рис. 2). Предобработка проростков SNP способствовала снижению негативного действия моделируемой ПЭГ засухи на целостность мембранных структур, на что указывают данные по уменьшению уровня стресс – индуцированного накопления МДА и экзоосмоса электролитов (рис. 2), это является еще одним аргументом в пользу применения оксида азота для повышения устойчивости пшеницы к дефициту влаги.

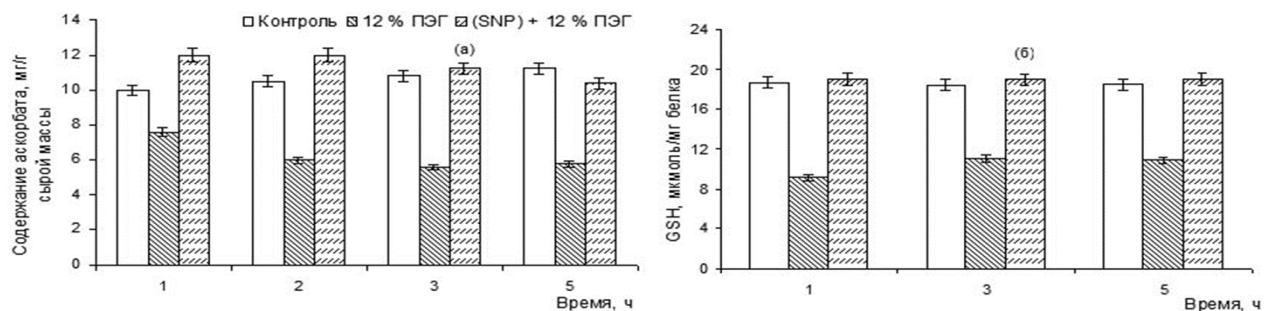


Рис. 1. Влияние 200 мкМ SNP на содержание аскорбата (а) и глутатиона (б) в корнях 4-х суточных растений пшеницы в ходе воздействия 12 % ПЭГ

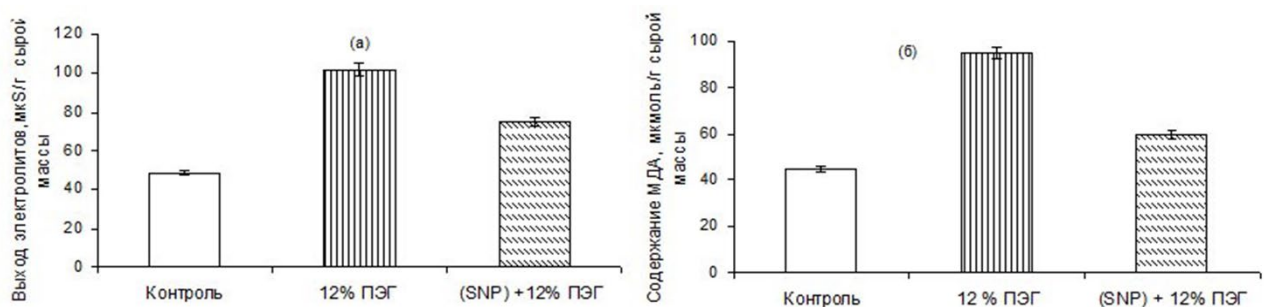


Рис. 2. Влияние 200 мкМ SNP на выход электролитов (а) и содержание МДА (б) в 4-х суточных проростках пшеницы подвергнутых 7 ч воздействию 12 % ПЭГ

Таким образом, важный вклад в формировании SNP-индуцированной устойчивости растений пшеницы к действию 12 % ПЭГ вносит его способность регулировать содержание глутатиона и аскорбата, что в целом приводит к стабилизации состояния мембранных структур клетки и нормализации роста растений. Полученные результаты указывают на защитный эффект 200 мкМ SNP на проростки пшеницы в условиях дефицита влаги, тем самым, расширяя спектр проявлений протекторного действия оксида азота в растениях.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (20–04–00904 а) частично в рамках госзадания (№ гос. регистрации АААА-А16–116020350029–1) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

ЛИТЕРАТУРА

1. Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Мур Л.А. Холл М.А., Новикова Г.В. Регуляторная роль оксида азота у растений. Физиология растений. 2015. Т. 62. С. 459–474. doi: 10.7868/S0015330315040132
2. Nabi R.B.C, Tayade R., Hussain A., Kulkarni K.P., Imran Q.M., B. – G. Mun, B-W Yun Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. Environmental and Experimental Botany. 2019. V.161. P. 120–133. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.003>
3. Ding Y., Gardiner D.M., Kazan K. Regulators of nitric oxide signaling triggered by host perception in a plant pathogen. PNAS. 2020. V. 117(20). P. 11147–11157. doi.org/10.1073/pnas.1918977117
4. Maslennikova D.R., Allagulova Ch. R., Fedorova K.A., Plotnikov A.A., Avalbaev A.M., Shakirova F. M Cytokinins contribute to realization of nitric oxide growth-stimulating and protective effects on wheat plants. Russian Journal of Plant Physiology. 2017. V. 64(5). P. 665–671. doi: 10.1134/S1021443717040094
5. Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / Калинингр. ун-т; Авт.-сост. Г.Н. Чупахина. – Калининград. 2000. 59 с.
6. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. Успехи биологической химии. 2014. Т. 54. С. 316–324.
7. Ковалева О.Н. Содержание аскорбиновой кислоты и глутатиона в прорастающих семенах различных сортов ярового ячменя: автореф. дис. канд. биол. наук. Краснодар. 2011. 25 с.