

ВЛИЯНИЕ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ИНФИЦИРОВАНИЯ

Г.П. Акимова, М.Г. Соколова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, akimova@sifibr.irk.ru; SokolovaMG@sifibr.irk.ru

Аннотация. Изучали влияние инокуляции *Rhizobium leguminosarum* на про- и антиоксидантную активности пероксидазной ферментной системы в клетках корней проростков гороха. Показано, что *Rhizobium* увеличивает ИУК-оксидазную функцию пероксидазы в растворимой и связанной с клеточными стенками фракциях фермента, что, очевидно, связано с регуляцией начальных этапов инфицирования.

Ключевые слова: *Rhizobium leguminosarum*, корни, проростки, *Pisum sativum* L., пероксидаза, ИУК-оксидаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-47-49

Отличительной чертой всех пероксидаз (ПО) является их полифункциональность в различных биохимических реакциях, а именно в реакциях оксидазного, пероксидазного и оксигеназного окисления субстратов, что позволяет предполагать активное участие их в контроле процессов роста и механизмов формирования ответных реакций растений на действие абиотических и биотических факторов [Карташова, и др., 2000; Газарян, Хушпульян, 2006]. В частности, при формировании у бобовых растений симбиотических отношений с клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium* [Глянько, Акимова и др., 2007; Акимова и др., 2017]. Широкая субстратная специфичность ПО предполагает наличие разных механизмов окисления, реализуемых ферментом [Лебедева, Угарова, 1996].

Цель исследований – изучить влияние инокуляции *Rhizobium leguminosarum* на про- и антиоксидантную активности пероксидазной ферментной системы в клетках корней проростков гороха.

В работе использовались 2-3 сут проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Аксайский усатый. Инокуляцию проростков проводили суспензией клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicea* L. (штамм CIAM 1026) в концентрации 10^7 кл/мл. Контролем служили неинокулированные проростки гороха. Выделение разных форм пероксидазы (ПО): растворимой (цитоплазматической), ионно- и ковалентно-связанной с клеточными стенками осуществляли по методу [Юсупов и др., 2006] через 1 и 24 ч после инокуляции. Для эксперимента использовали отрезки 5-15 мм от кончика корня, как наиболее восприимчивые к ризобийной инфекции [Акимова и др, 2004]. Для оценки активности ПО использовали различные субстраты. В качестве субстрата для выявления оксидазной (прооксидантной) функции фермента - ИУК; пероксидазной (антиоксидантной) – орто-дианизидин. Активность ПО регистрировали по увеличению продукта в реакционной смеси по начальной скорости окисления о-дианизидина перекисью водорода [Лебедева и др., 1981], ИУК – по убыли ИУК в реакционной смеси с реактивом Сальковского по методу [Гамбург, 1976]. Активность ИУКО рассчитывали в мкг разрушенной ИУК / г сырой массы в минуту, активность ПО - отн.ед./г сырой массы. Опыты проводили в трех биологических повторностях. Данные статистически обработаны, в таблице приведены средние величины в % к контролю.

Показано, что пероксидазная (антиоксидантная) функция фермента под влиянием *Rh. leguminosarum* снижалась в растворимой фракции, возрастала до уровня контрольных растений во фракции ионно-связанной и увеличивалась в ковалентно-

связанной с клеточными стенками в отрезках корней проростков гороха уже через 1 ч после инокуляции. Через 24 ч после инокуляции во фракции ионно-связанной с клеточными стенками активность фермента еще более возростала. Оксидазная (прооксидантная) функция фермента значительно возростала и в растворимой, и в ионно-связанной с клеточными стенками фракциях и через 1 ч, и, особенно, через 24 ч.. Во фракции ковалентно-связанной с клеточными стенками активность ИУКО была очень низкой.

Таблица.

Влияние *Rh. leguminosarum* на активность ПО и ИУК-оксидазы в клетках корней проростков гороха в % к контролю

Ферменты / Варианты	Фракции ферментов		
	Растворимая	Ионно-связанная с клеточными стенками	Ковалентно-связанная с клеточными стенками
Пероксидаза			
H ₂ O 1 ч	100	100	100
H ₂ O 24 ч	100	100	100
<i>Rh. lg</i> 1 ч	93,5	102,4	140,4
<i>Rh. lg</i> 24 ч	97,0	156,2	128,2
ИУК-оксидаза			
H ₂ O 1 ч	100	100	100
H ₂ O 24 ч	100	100	100
<i>Rh. lg</i> 1 ч	153,8	133,3	100,0
<i>Rh. lg</i> 24 ч	238,5	174,1	105,0

Увеличение пероксидазной функции во фракциях ионно- и ковалентно-связанной может быть связано с участием фермента в модификации оболочек как клеток корней, так и корневых волосков при образовании инфекционных нитей. Предполагается, что H₂O₂, присутствующая в инфекционных нитях, может участвовать в перикисном окислении одного из основных компонентов матрикса инфекционной нити арабиногалактанпротеин-экстензина, повышая плотность матрикса нити [Цыганова и др., 2011].

Значительное увеличение оксидазной функции фермента уже в течение первых суток после инокуляции во фракциях растворимой и ионно-связанной с клеточными стенками свидетельствует о влиянии *Rhizobium* на метаболизм ИУК, приводящий к снижению ее содержания в клетках корней проростков гороха. Это может менять соотношение ИУК:цитокнины в сторону последних, что является необходимым для пролиферации клеток при формировании примордия клубенька [Hirsh et al., 1997]. В отличие от этого низкая активность ИУКО в ковалентно-связанной фракции фермента, очевидно, сохраняет эндогенное содержание ИУК, необходимое для роста инфекционных нитей и модификации оболочек клеток корней и корневых волосков. Именно с ИУК связывают увеличение пластичности клеточных стенок, способность их к растяжению, так как она участвует в регуляции активности ферментов ее синтеза [Шарова, 2004]. Тогда как ИУКО осуществляет окислительное декарбоксилирование ИУК с потерей ауксиновой активности.

Таким образом, результаты исследования показывают, что *Rh. leguminosarum* оказывает влияние на ПО ферментную систему в клетках корней проростков гороха, осуществляя регуляцию прооксидантных и антиоксидантных реакций, очевидно, необходимых на начальных этапах инфицирования корней.

Литература

Акимова Г.П., Верхотуров В.В., Соколова М.Г., Нечаева Л.В., Лузова Г.Б. Изменение активности и каталитических свойств пероксидазы корней гороха на начальных этапах инфицирования *Rhizobium leguminosarum* // Агрехимия. – 2004. – № 1. – С. 86–90.

Акимова Г.П., Верхотуров В.В., Соколова М.Г. Влияние *Azotobacter* на активность пероксидазы и содержание пероксида водорода в корнях проростков гороха, инокулированных *Rhizobium* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 120–125.

Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Тишков В.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // Успехи биол. химии. – 2006. – Т. 46. – С. 303–322.

Гамбург К.З. Биохимия ауксина и его действие на клетки растений. – Новосибирск: Наука, 1976. – 272 с.

Глянько А.К., Акимова Г.П., Соколова М.Г., Макарова Л.Е., Васильева Г.Г. Защитно-регуляторные механизмы при развитии бобово-ризобиального симбиоза // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. – Т. 43, № 3. – С. 289–297.

Карташева Е.Р., Руденская Г.Н., Юрина Е.В. Полифункциональность растительных пероксидаз и их практическое использование // С.-х. биология. – 2000. – № 5. – С. 63–70.

Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Совместное окисление ферроцианида калия и о-дианизида перекисью водорода, катализируемое пероксидазой из хрена. Субстрат-субстратная активация // Биохимия. – 1981. – Т. 46, № 7. – С. 1202–1209.

Лебедева О.В., Угарова Н.Н. Механизм пероксидазного окисления. Субстрат-субстратная активация в реакциях, катализируемых пероксидазой хрена // Известия Академии наук. Серия химическая. – 1996. – № 1. – С. 25–32.

Цыганова А.В., Китаева А.Б., Бревин Н.Дж., Цыганов В.Е. Клеточные механизмы развития симбиотических клубеньков у бобовых растений // С/х биология. – 2011. – № 3. – С. 34–38.

Шарова Е.И. Клеточная стенка растений – СПб: Изд. СПб ун-та, 2004. – 156 с.

Юсупова З.Р., Хайруллин Р.М., Максимов И.В. Активность пероксидазы в различных клеточных фракциях при инфицировании пшеницы *Septoria nodorum* Berk. // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 6. – С. 910–917.

Hirsch A.M., Fang Y., Asad S., Kapulnik Y. The role of phytohormones in plant-microbe symbiosis // Plant Soil. – 1997. – V. 194. – P. 171–184.

INFLUENCE *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* ON PRO- AND ANTIOXIDANT ACTIVITY PEROXIDASE OF ROOTS OF PEAS AT INITIAL STAGES INFECTION

G.P. Akimova, M.G. Sokolova

Siberian institute of plant physiology and biochemistry of SB RAS, Irkutsk, Russia, akimova@sifibr.irk.ru; SokolovaMG@sifibr.irk.ru

Abstract. Studied influence inoculation *Rhizobium leguminosarum* on pro- and antioxidant activity peroxidase enzyme system in cells of roots of peas. *Rhizobium* increases IAA-oxidase function peroxidase in soluble and in connected with cellular walls fractions of enzyme. It is shown, that *Rhizobium* increases IAA-oxidase function peroxidase in soluble and in connected with cellular walls fractions of enzyme, that it is obvious, is connected to regulation the initial stages infection.

Keywords: *Rhizobium leguminosarum*, seedling, root, *Pisum sativum* L, peroxidase, IAA-oxidase