

## ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ДЛИТЕЛЬНОЕ ПОСТОЯННОЕ И КРАТКОВРЕМЕННОЕ ПЕРИОДИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР ОТ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА НА 70S И 80S РИБОСОМАХ

Е.Г. Шерудило, Т.Г. Шибаета, Е.Н. Икконен, А.Ф. Титов

Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Петрозаводск, Россия, [sherudil@krc.karelia.ru](mailto:sherudil@krc.karelia.ru)

**Аннотация.** Исследовали влияние ингибиторов белкового синтеза (циклогексимид, хлорамфеникол) на реакцию растений огурца и пшеницы на постоянное и кратковременное (ДРОП) действие низкой температуры. Ингибиторы тормозили рост, снижали скорость газообмена во всех вариантах опыта, но наиболее явно – в контроле и ДРОП. Повышенный уровень холодоустойчивости растений при ДРОП-воздействиях обеспечивается не только за счет работы белоксинтезирующей системы, но и благодаря участию физиолого-биохимических механизмов.

**Ключевые слова:** ингибиторы белкового синтеза, низкая температура, холодоустойчивость, газообмен

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-821-825

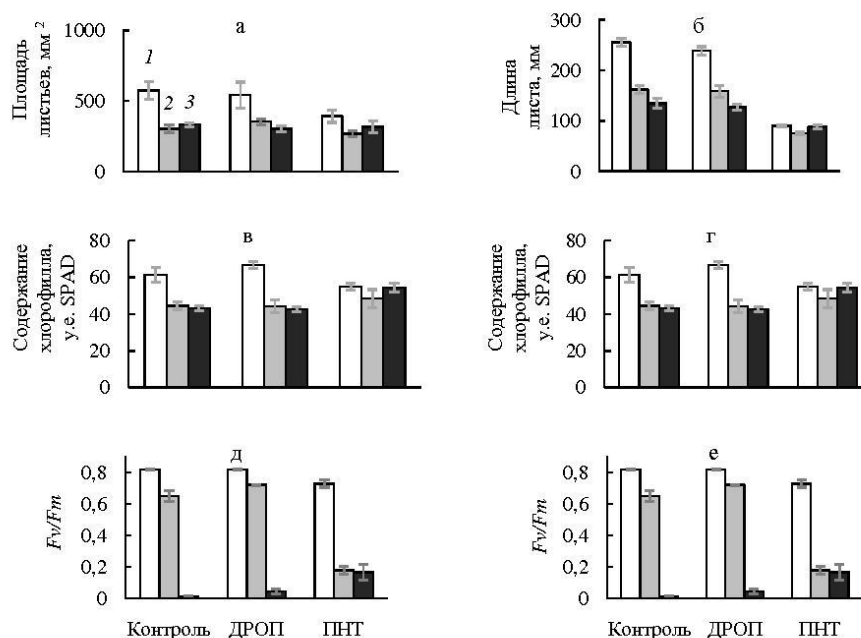
Одним из способов выявления взаимосвязи между активностью транскрипционно-трансляционной системы клеток и ростом устойчивости растений к холоду является ингибиторный анализ. С его помощью была установлена зависимость процесса формирования повышенной устойчивости растений при постоянном действии низких закаливающих температур от синтеза белка *de novo* [Трунова, Зверева, 1977; Титов, 1989]. Однако адаптивный потенциал растений включает достаточно широкий спектр защитно-приспособительных реакций, связанных не только с молекулярно-генетическими, но и с физиологическими и биохимическими механизмами, реализуемыми на посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. В связи с этим исследованы некоторые физиолого-биохимические особенности реакции растений огурца и пшеницы на длительное постоянное действие низкой температуры (ПНТ) и кратковременное, периодически повторяющееся (ДРОП-воздействие, от англ. *drop* – падение, снижение) при подавлении биосинтеза белка на 80S (циклогексимидом, ЦГ) и 70S рибосомах (хлорамфениколом, ХФ). Известно, что оба указанных типа низкотемпературных воздействий повышают холодоустойчивость растений [Титов, 1989; Марковская и др., 2007]. Однако, если участие белоксинтезирующей системы в повышении устойчивости растений при ПНТ установлено, то в отношении ДРОП-воздействий этот вопрос остается пока открытым.

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Зозуля F1) и пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Московская 39) выращивали в камере искусственного климата (Vötsch, Германия) в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе (рН 6.2–6.4) при температуре воздуха 23 °С, фотопериоде 12 ч, освещенности 150 мкмоль/(м<sup>2</sup> с) ФАР, влажности воздуха 70%. Восьмидневные растения в течение 6 сут подвергали действию температуры 4 °С (пшеница) и 12 °С (огурец) круглосуточно (вариант ПНТ) или 2 ч в конце ночного периода (вариант ДРОП). Контрольные растения оставались при температуре 23 °С. За сутки до начала низкотемпературных воздействий часть растений всех вариантов (контроль, ДРОП и ПНТ) переводили на водные растворы циклогексимид (ЦГ, 0.8 мг/л для огурца и 12 мг/л для пшеницы) и хлорамфеникола (ХФ, 200 мг/л для обеих культур). Вторую часть растений вариантов контроль, ДРОП и

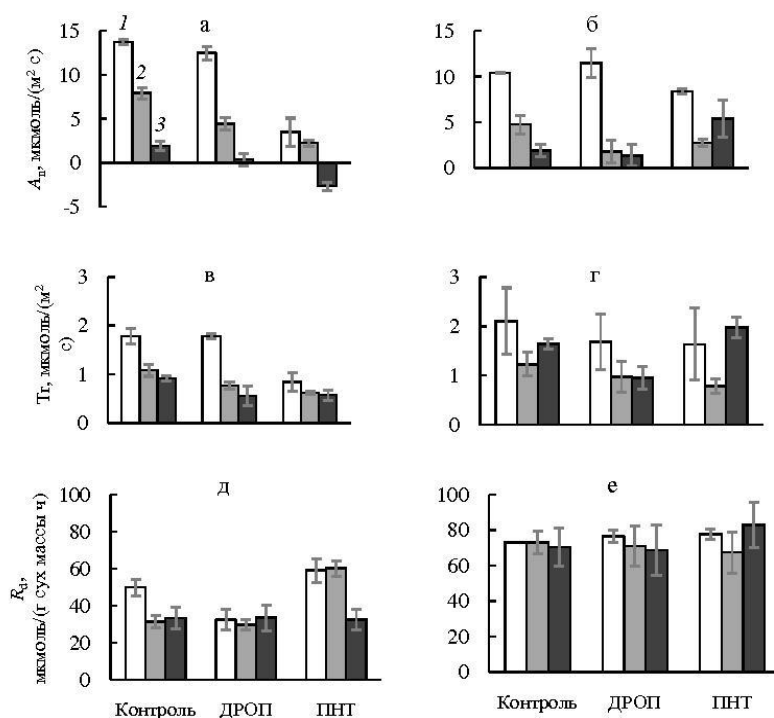
ПНТ оставляли на воде без ингибиторов. Смену растворов проводили каждые двое суток.

В ходе опытов определяли площадь листьев у огурца и длину листьев у пшеницы. Суммарное содержание хлорофиллов оценивали с помощью измерителя уровня хлорофилла SPAD 502 Plus (Konica Minolta, Osaka, Япония). Фотосинтез и транспирацию листьев анализировали с помощью портативной фотосинтетической системы HCM-1000 (Walz, Германия) при температуре листа 23 °C и ФАР, равной 1000 мкмоль/(м<sup>2</sup> с). Интенсивность дыхания определяли полярографически с использованием электрода Кларка (Oxygraph System Plus, Hansatech, Великобритания). Для измерения флуоресценции хлорофилла использовали анализатор фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением (MINI-PAM, "Walz", Германия). Потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФС II ( $F_v/F_m$ ) определяли после 20-минутной темновой адаптации листьев. О холодоустойчивости клеток листьев судили по температуре ( $LT_{50}$ ), вызывающей гибель клеток листовых высевок после их 5-минутного промораживания в термоэлектрическом термостате [Дроздов и др., 1976].

Установлено, что используемые ингибиторы тормозили рост листьев у растений в контроле и в вариантах ДРОП и ПНТ, а также частично или полностью блокировали работу ФСII, снижали скорость видимого фотосинтеза, транспирации, темнового дыхания и накопление хлорофилла во всех вариантах опыта, но наиболее ощутимо – в контроле и варианте с ДРОП-воздействиями (рис. 1 и 2). Влияние ХФ на показатель  $F_v/F_m$  и скорость видимого фотосинтеза заметно превышало аналогичное действие ЦГ во всех вариантах опыта, свидетельствуя о серьезных нарушениях в работе ФСА и существенной зависимости работы ФСII от синтеза белков на пластидных 70S рибосомах, что согласуется с данными о независимости фотоингибирования фотосинтеза при низких температурах от синтеза белка на 80S рибосомах [Gree et al., 1986].



**Рис. 1.** Влияние ингибиторов синтеза белка на рост листьев огурца (а) и пшеницы (б), содержание хлорофилла в листьях огурца (в) и пшеницы (г), и потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФСII ( $F_v/F_m$ ) листьев огурца (д) и пшеницы (е) в контроле и вариантах ДРОП и ПНТ. 1 – без ингибитора, 2 – с циклогексимидом, 3 – с хлорамфениколом.



**Рис. 2.** Скорость видимого фотосинтеза ( $A_n$ , а, б), транспирация ( $T_r$ , в, г), дыхание ( $R_d$ , д, е) листьев огурца (а, в, д) и пшеницы (б, г, е) в контроле и вариантах ДРОП и ПНТ. Разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости  $P < 0.05$ . 1 – без ингибитора, 2 – с циклогексимидом, 3 – с хлорамфениколом.

Оба ингибитора не влияли на холодоустойчивость клеток листьев огурца и пшеницы в контроле, но тормозили повышение холодоустойчивости при низкотемпературных обработках (варианты ПНТ и ДРОП) (таблица). Полученные данные подтвердили ранее установленную зависимость роста холодоустойчивости в условиях постоянного действия низкой температуры (вариант ПНТ) от биосинтеза белка на 70S и 80S рибосомах [Трунова, Зверева, 1977; Титов, 1989 и др.] и впервые продемонстрировали роль белоксинтезирующей системы в повышении холодоустойчивости растений при ДРОП-воздействиях. Выявлены особенности участия системы биосинтеза белка в повышении холодоустойчивости растений при двух типах низкотемпературного воздействия, свидетельствующие о разной зависимости этого процесса от синтеза белка на 70S и 80S рибосомах. В условиях ПНТ ХФ оказывал меньшее, чем ЦГ ингибирующее действие на рост холодоустойчивости (таблица), согласуясь с ранее установленным фактом о большей зависимости формирования повышенной устойчивости растений при постоянном действии низких температур от активности цитоплазматических 80S рибосом [Трунова, Зверева, 1977; Титов, 1989]. Напротив, в варианте ДРОП ХФ отличался от ЦГ большей эффективностью в начальный период ДРОП-воздействий (таблица), что предполагает более активное участие и более важную роль 70S рибосом в ответной реакции растений на ДРОП-воздействия по сравнению с реакцией на ПНТ.

Следует отметить, что формирование повышенной устойчивости при ДРОП-воздействиях наиболее эффективно подавлялось ингибиторами синтеза белка на начальном этапе этого процесса (таблица), когда появление новых транскриптов коррелировало с ростом холодоустойчивости листьев [Марковская и др., 2007].

Дальнейший рост устойчивости растений в варианте ДРОП, в отличие от варианта ПНТ, происходил уже на фоне снижения транскрипционной активности генетического аппарата [Марковская и др., 2007] и белоксинтезирующей системы (таблица).

Таблица.

**Степень ингибирования (в%) циклогексимидом (ЦГ) и хлорамфениколом (ХФ) процесса повышения холодоустойчивости листьев огурца и пшеницы в зависимости от типа низкотемпературного воздействия (ДРОП и ПНТ)**

Вид	Время, сут	Контроль		ДРОП		ПНТ	
		ЦГ	ХФ	ЦГ	ХФ	ЦГ	ХФ
Огурец	2 сут	0	0	45	55	50	30
	6 сут	0	0	39	38	67	33
Пшеница	2 сут	0	0	42	50	47	37
	6 сут	0	0	37	37	56	36

Таким образом, повышенный уровень холодоустойчивости при ДРОП-воздействиях обеспечивается не только благодаря функционированию молекулярно-генетических механизмов, но и активному участию физиолого-биохимических механизмов, реализующих себя на посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. Это подтверждают полученные ранее [Икконен и др., 2015] и представленные в этой работе данные о нормальном функционировании фотосинтетического аппарата растений в варианте с ДРОП-воздействиями и показателях их газообмена, сопоставимых с контролем.

*Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (№ темы 0221-2017-0051).*

#### Литература

Дроздов С. Н., Будыкина Н. П., Курец В. К., Балагурова Н. И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. – Л.: Колос, 1976. – С. 222–228.

Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Титов А.Ф. Реакция фотосинтетического аппарата листа у *Cucumis sativus* L. на кратковременное ежесуточное понижение температуры // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 528–532.

Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г., Топчиева Л.В. Дифференциальная экспрессия генов в растении огурца в ответ на многократные кратковременные низкотемпературные воздействия // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 5. – С. 686–691.

Титов А.Ф. Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: закономерности варьирования и механизмы. Автореферат дисс... докт. биол. наук. – М., – 1989. – 42 с.

Трунова Т.И., Зверева Г.Н. Влияние ингибиторов белкового синтеза на морозостойкость пшеницы // Физиология растений. – 1977. – Т. 24, № 2. – С. 395–402.

Gree D.H., Berry J.A., Bjorkman O. Photoinhibition of photosynthesis in bean leaves: role of light and temperature, and requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery // Planta. – 1986. – V. 1. – P. 253–260.

# **EFFECT OF PROTEIN SYNTHESIS INHIBITORS ON PLANT RESPONSE TO PROLONGED PERMANENT AND SHORT-TERM DAILY EXPOSURES TO LOW TEMPERATURE**

E.G. Sherudilo, T.G. Shibaeva, E.N. Ikkonen, A.F. Titov

Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, *sherudil@krc.karelia.ru*

**Abstract.** The effects of protein synthesis inhibitors (cycloheximide and chloramphenicol) on response of cucumber and wheat plants to prolonged permanent and short-term daily exposures to chilling temperatures (DROP) have been studied. Inhibitors retarded plant growth and reduced the rate of gas exchange in all plants, but decreases were most pronounced in the control and DROP-treated plants. There was shown that DROP-induced chilling tolerance enhancement occurs not only due to the activity of protein-synthesizing system, but also owing to physiological-biochemical mechanisms.

**Keywords:** *protein synthesis inhibitors, low temperature, chilling tolerance, gas exchange*