

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ В МЕЗОФИЛЛЕ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

М.О. Гатауллина, Н.В. Селиванова, А.Т. Епринцев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия, *marina.gataullina@gmail.com*

Аннотация. Было исследовано влияние стресса на малатдегидрогеназную систему в мезофилле листьев кукурузы. Растения подвергались воздействию холода, тепла и соли в течение 24 часов. Были построены графики динамики активности NAD-MDH, NADP-MDG, NAD-ME и NADP-ME. Различные ферменты малатдегидрогеназной системы реагируют по-разному и могут участвовать в нивелировании стресса. Результаты исследования показывают индукцию цикла трикарбоновой кислоты и интенсификацию цикла Хатч-Слейк в стрессовых условиях. На основе полученных данных обсуждается роль ферментной системы малатдегидрогеназы в механизмах адаптивной реакции листьев кукурузы к засолению и экстремальным температурам.

Ключевые слова: малатдегидрогеназа, малик-энзим, солевой стресс, температурный стресс, мезофилл

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-211-215

Хозяйственная деятельность человека постепенно меняет природные экосистемы. Нерациональная индустриализация вызывает засуху, засоление, повышение радиоактивного фона. Так, культивируемые растения оказываются в неблагоприятных условиях, к которым вынуждены адаптироваться. Абиотические стрессы вызывают окислительный стресс на клеточном уровне, что требует от растений высокой степени координации и баланса между сигнальными и метаболическими путями в разных клеточных компартментах.

В зеленых листьях важным аспектом является сопряжение хлоропластов, цитозоля и митохондрий при стрессе для модуляции клеточного редокс-гомеостаза [Wang et al., 2016].

Двойной путь утилизации малата с помощью малатдегидрогеназ и малик-энзимов позволяет организму уменьшить зависимость от гликолиза при катаболизме и синтезе углеводов. Растительная малатдегидрогеназная система представляет собой динамическое равновесие белков, способное четко реагировать на физиологическое состояние и потребности организма, а также на изменение окружающей среды [Пинейру де Карвалью и др., 1991]. Малатдегидрогеназный комплекс представлен четырьмя типами ферментов, два из которых катализируют обратимое превращение оксалоацетата в малате с помощью НАД/Н или НАДФ/Н в качестве окислителя/восстановителя, соответственно (НАД-МДГ, КФ 1.1.1.37 и НАДФ-МДГ, КФ 1.1.1.82) [Scheibe, 2004]. Два других энзима участвуют в окислительном декарбоксилировании малата, запасая энергию в форме НАДН или НАДФ (НАД-малик-энзим, КФ 1.1.1.39 и НАДФ-малик-энзим, КФ 1.1.1.40) [Chang & Tong, 2003]. Благодаря работе данной ферментной системы осуществляется координация и сопряжение отдельных метаболических процессов в клетке.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение роли отдельных компонентов малатдегидрогеназной системы мезофилла кукурузы в формировании адаптивной реакции клетки к условиям абиотических стрессов.

Объектом исследования служили 10-дневные проростки кукурузы сорта Воронежская-76, выращенные гидропонным методом. Для формирования солевого стресса применяли 150 мМ раствор NaCl, ионы которого обладают низкой физиологической активностью в растительной клетке. Для изучения температурного стресса растения выдерживали при 4 °С и 37 °С. Экспозиция эксперимента составляла 24 ч. Контролем служили растения, экспонируемые в воде в нормальных условиях. Разделение мезофилла и обкладки проводили по методу [Епринцев и др., 2016]. Активность малатдегидрогеназ измеряли спектрофотометрически при 340 нм по изменению оптической плотности, обусловленному утилизацией или накоплением НАДН/НАДФН.

Солевой стресс является одним из самых распространенных явлений для сельскохозяйственных растений и интенсивно изучается. Токсичные уровни натрия в органах растений повреждают биологические мембраны и субклеточные органеллы, снижая рост и вызывая аномальное развитие растений.

Анализ данных по динамике активности ферментов МДГ-комплекса в мезофилле зеленых листьев кукурузы при засолении, представленных на рис. 1, показывает, что под действием хлорида натрия в мезофилле кукурузы происходит активация НАД-зависимой МДГ в первые 3 ч действия стрессора. В дальнейшем активность фермента в опытных растениях заметно падает, не достигая контрольных значений. Засоление также приводит к увеличению ферментативной активности НАД-зависимого малик-энзима через 3 ч экспозиции, хотя и в меньшей степени (по сравнению с НАД-МДГ). Однако через сутки после начала опыта данный показатель становится ниже в 2,8 раза, чем в контроле.

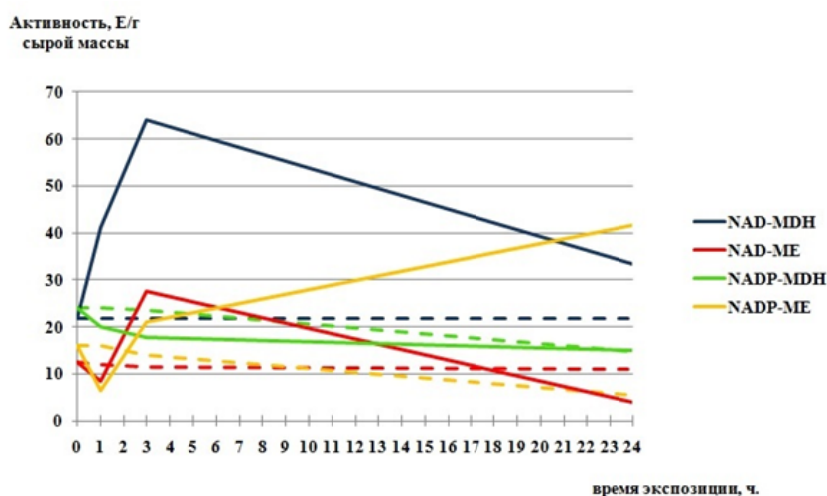


Рис. 1. Динамика активности ферментов малатдегидрогеназной системы в условиях солевого стресса (сплошной линией отмечены опытные образцы, пунктиром – контрольные измерения).

Что касается функционирования НАДФ-зависимой МДГ, то под влиянием высоких концентраций соли наблюдается снижение значений ее активности относительно контроля на протяжении всего времени экспозиции. Интересно, что скорость функционирования НАДФ-малик-энзима постепенно увеличивалась (небольшое снижение наблюдалось в течение первого часа инкубации). Наибольшая разница между опытными и контрольными значениями была зафиксирована через 24 ч экспозиции и достигала 7,8 раза.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что хлорид натрия вызывает интенсификацию основных метаболических процессов в клетках мезофилла листьев кукурузы в первые часы действия стрессора. Активация НАД-зависимой МДГ

свидетельствует об индукции ЦТК в стрессовых условиях, что соответствует известному эффекту «солевого дыхания» [Головкин, 1999]. Наблюдаемая в мезофилле значительная интенсификация засолением НАДФ-зависимого малик-энзима может быть связана с накоплением в стрессовых условиях пирувата, обеспечивающего клетку энергией и являющегося предшественником важнейшего осморегулятора клеток – аланина [Yamamoto et al., 2015].

Адаптация растений к низким температурам является сложным, интегральным процессом, протекающим на всех уровнях структурной организации организма и затрагивающим практически все функции растения. На сегодняшний день механизмы приспособленности теплолюбивых растений к низким температурам изучены недостаточно полно. Поэтому детальное изучение регуляции физиологических процессов на ферментативном уровне имеет важное значение для выяснения механизмов адаптации теплолюбивых растений к низким температурам.

Анализ активности отдельных компонентов малатдегидрогеназной системы в условиях холодого стресса показал, что в первые часы экспозиции данный фактор негативно влияет на исследуемые ферменты, снижая скорость их функционирования относительно контроля (рис. 2). Исключение составляет НАД-зависимая малатдегидрогеназа, скорость работы которой в первый час пребывания растений на холоду повышается в 2,5 раза, однако длительная инкубация листьев кукурузы при низких значениях температур (24 ч) приводит к постепенному уменьшению активности НАД-МДГ ниже контрольных значений.

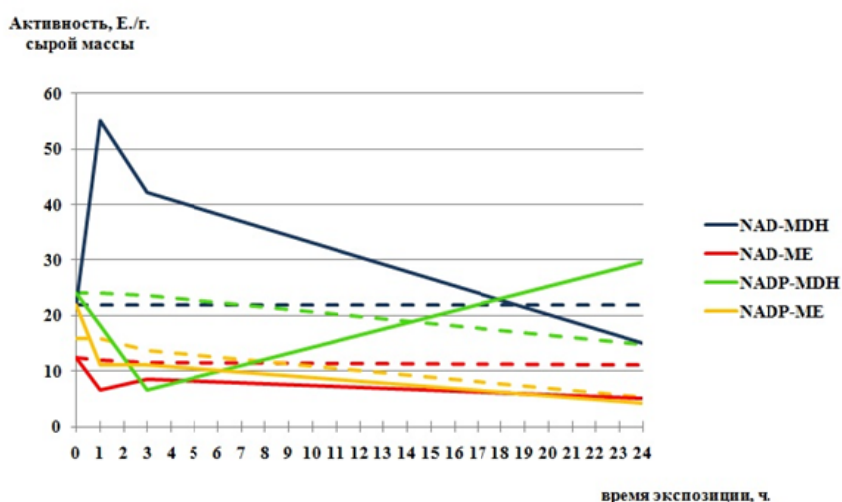


Рис. 2. Динамика активности ферментов малатдегидрогеназной системы в условиях холодого стресса (экспозиция при +4 °C) (сплошной линией отмечены опытные образцы, пунктиром – контрольные измерения).

Противоположным холодому является высокотемпературный стресс. Он является серьезной проблемой для сельского хозяйства, так как характерен более чем для 23% суши и негативно влияет на урожай культурных растений, как самой неприспособленной группы [Кошкин, 2010].

В целом, высокие температуры негативно влияют на НАД-зависимые ферменты. Их активность характеризуется кратковременным увеличением (1 ч экспозиции) и уменьшением исследуемого показателя в дальнейшем. Особенно ярко это проявляется у НАД-зависимой малатдегидрогеназы. Скорость ее функционирования через сутки после начала опыта снизилась в 4,2 раза относительно контроля. Аналогичные результаты были получены и для НАДФ-МДГ. Известно, что толерантность к высоким температурам подлжит закону дозы – действия, т. е. длительно действующая более

низкая жара вызывает такой же вред, как короткодействующая большая жара, что подтверждается снижением активности исследуемых ферментов спустя 24 ч эксперимента (рис. 3).

Следует отметить, что активность НАДФ-зависимого малик-энзима в условиях гипертермии в мезофилле кукурузы практически не менялась.

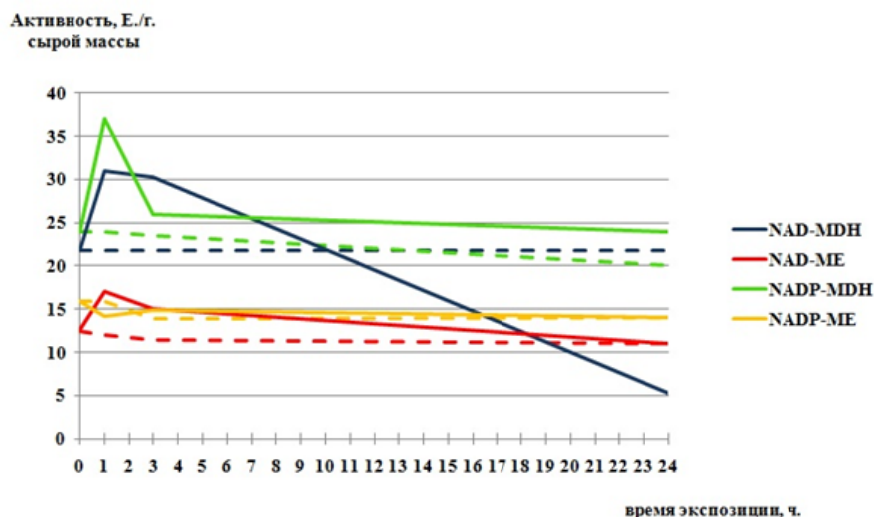


Рис. 3. Динамика активности ферментов малатдегидрогеназной системы в условиях теплового стресса (экспозиция при +37 °C) (сплошной линией отмечены опытные бразцы, пунктиром – контрольные измерения).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют об индукции цикла трикарбоновых кислот и интенсификации цикла Хэтча-Слейка в стрессовых условиях. На основании полученных данных обсуждается роль малатдегидрогеназной ферментной системы в механизмах адаптивной реакции мезофилла листьев кукурузы к засолению и экстремальным температурам.

Литература

Головко Т. К. Дыхание растений (физиологические аспекты). – Санкт-Петербург: Наука: 1999. – 204 с.

Епринцев А. Т., Гатауллина М. О., Лященко М. С. Получение гомогенных препаратов изоформ НАД⁺-зависимой малатдегидрогеназы из мезофилла листьев кукурузы и изучение их физико-химических и каталитических свойств // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – Т. 52, №. 4. – С. 365–369.

Кошкин Е. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – Москва: Дрофа, 2010. – 640 с.

Пинейру де Карвалью М.А.А., Землянухин А.Т. Малатдегидрогеназа высших растений. — Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1991. — 216 с

Chang G. G., Tong L. Structure and function of malic enzymes, a new class of oxidative decarboxylases // Biochemistry. – 2003. – V. 42, No. 44. – P. 12721–12733.

Scheibe R. Malate valves to balance cellular energy supply // Physiologia Plantarum. – 2004. – V. 120, No. 1. – P. 21–26.

Wang Q. J. et al. The enhancement of tolerance to salt and cold stresses by modifying the redox state and salicylic acid content via the cytosolic malate dehydrogenase gene in transgenic apple plants // Plant biotechnology journal. – 2016. – V. 14, No. 10. – P. 1986–1997.

Yamamoto N. et al. Comprehensive analysis of transcriptome response to salinity stress in the halophytic turf grass *Sporobolus virginicus* // Frontiers in plant science. – 2015. – V. 6. – P. 241.

PECULIARITIES OF FUNCTIONING OF ENZYME OF MALATEHYDROGENASE SYSTEM IN MEZOPHILLE OF CORN LEAVES IN STRESS CONDITIONS

M.O. Gataullina, N.V. Selivanova, A.T. Eprinsev

Voronezh State University, Voronezh, Russia, *marina.gataullina@gmail.com*

Abstract. This has been investigated the effect of stress on the maize dehydrogenase mesophyll system of maize leaves. The plants were exposed to cold, heat and salt stress for 24 hours. Graphs of activity dynamics of NAD-MDH, NADP-MDG, NAD-ME and NADP-ME were constructed. Different enzymes of the malate dehydrogenase system react differently to stresses and can participate in the stress leveling. The results of the study indicate the induction of the tricarboxylic acid cycle and the intensification of the Hatch-Slake cycle under stressful conditions. Based on the data obtained, the role of the malate dehydrogenase enzyme system in the mechanisms of the adaptive mesophyll reaction of maize leaves to salinity and extreme temperatures is discussed.

Keywords: *malate dehydrogenase, malic enzyme, salt stress, temperature stress, mesophyll*