

АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ОКСИДАЗА МИТОХОНДРИЙ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ГИПО- И ГИПЕРТЕРМИИ

О.И. Грабельных^{1,2}, Т.П. Побежимова¹, О.А. Боровик¹, Н.С. Забанова^{1,2}, А.В. Степанов¹, И.В. Любушкина^{1,2}, А.В. Корсукова^{1,2}, В.К. Войников¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, grolga@sifibr.irk.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Аннотация. Представлены данные по участию альтернативной цианид-резистентной оксидазы (АО) митохондрий в ответной реакции растений на действие низких и высоких температур. Показана высокая потенциальная активность АО при длительном действии низких и высоких закаливающих температур на проростки пшеницы. С использованием растений, суспензионной культуры клеток и протопластов арабидопсиса с измененной экспрессией *AOX1a* показана защитная роль альтернативной оксидазы при температурном стрессе.

Ключевые слова: температурный стресс, митохондрии, альтернативная оксидаза, *AOX1a*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-238-240

Один из путей решения проблемы адаптации растений к экстремальным температурам связан с исследованиями физиологических систем митохондрий, способных рассеивать энергию в виде тепла. Исторически первой энерго-рассеивающей системой у растений была открыта альтернативная оксидаза (АО). Альтернативный путь переноса электронов, связанный с функционированием АО, устойчивой к ингибиторам комплексов III и IV, ответвляется от основной дыхательной цепи на уровне пула убихинона, минуя, таким образом, два из трех пунктов запаса энергии, которая высвобождается в виде тепла [Lambers et al., 2005]. АО – высокорегулируемый фермент, который принимает участие в процессах адаптации растений к различным абиотическим и биотическим стрессам [Vanlerberghe, 2013]. Возможные функции АО у растений: участие в термогенезе; участие в предотвращении образования активных форм кислорода (АФК); участие совместно с ротенон-нечувствительными НАД(Ф)Н-дегидрогеназами (НАД(Ф)Н-ДГ II типа) в окислении цитозольного или матричного НАД(Ф)Н; защита фотосинтетического аппарата от фотоингибирования при избыточном освещении; и др. Высокая значимость АО для метаболизма растительных клеток и ее роль в репрограммировании клетки в стрессовых условиях привели к тому, что в 2008 г. в Португалии (Évora, Alentejo) был организован первый международный симпозиум по АО (First International AOX Symposium 2008). Структуре, механизмам регуляции и функциям АО посвящено большое число обзоров.

Наши исследования, проведенные с использованием этиолированных и зеленых проростков и гетеротрофных суспензионных культур, выявили важную роль АО в механизмах адаптации растений к низким и высоким температурам. С использованием ингибиторов дыхательной цепи установлена антиоксидантная роль АО в первую фазу холодового закаливания озимой пшеницы [Грабельных и др., 2011]. Показано, что действие низкой положительной температуры приводит к подавлению цитохромного пути транспорта электронов в митохондриях, повышению содержания АФК и переключению транспорта электронов с цитохромного на альтернативный путь. Повышение способности АО к транспорту электронов после действия на проростки

закаливающей отрицательной температуры (2 фаза закалывания) связано с сохранением высокой активности внешней ротенон-нечувствительной НАД(Ф)Н-ДГ [Грабельных и др., 2014]. С использованием сенсовой (XX-2) и антисенсовой (AS-12) линий арабидопсиса [Umbach et al., 2005] удалось выявить, что изменение экспрессии гена *AOX1a* может приводить к существенным перестройкам в метаболизме растительной клетки, направленным на повышение холодо- и морозоустойчивости [Grabelnych et al., 2016].

Поскольку АФК играют ключевую роль в развитии адаптивной реакции и в гибели клетки при стрессовом воздействии, было предположено, что активация АО, предотвращающая генерацию АФК, будет влиять как на экспрессию генов стрессовых белков, так и повышение устойчивости к тепловому шоку. На протопластах из листьев арабидопсиса выявлено снижение продукции АФК при тепловом шоке у линии с повышенной экспрессией *AOX1a*. Анализ жизнеспособности протопластов выявил некоторое увеличение выживаемости протопластов у линий с измененной экспрессией *AOX1a*. С использованием суспензионных культур клеток арабидопсиса с измененной экспрессией *AOX1a* показано повышение содержания у линии AS-12 одного из белков теплового шока (БТШ) – Hsp101 и разобщающего белка UCP. Сравнительный анализ выявил, что в отличие от зеленых листьев в гетеротрофной культуре клеток арабидопсиса снижение экспрессии *AOX1a* приводит к индукции синтеза Hsp101 как в контрольных условиях, так и при тепловом стрессе. Анализ прироста биомассы клеток суспензионной культур выявил замедление процесса старения клеток у линий с измененной экспрессией *AOX1a*, особенно у линии AS-12. Показано, что воздействие закаливающей температурой 37 °С в течение 2 и, особенно, 24 часов, приводило к росту теплоустойчивости этиолированных проростков озимой пшеницы, связанному с синтезом некоторых БТШ (Hsp101, Hsp70, Hsp17,6). Эти изменения, наряду с повышением содержания в митохондриях белка и активности АО (через 24 ч воздействия), вероятно, способствовали снижению генерации АФК и сохранению интактности и окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий при последующем тепловом шоке [Грабельных и др., 2018]. Также наблюдали увеличение вклада АО в дыхание митохондрий из зеленых листьев на фоне повышенного содержания водорастворимых углеводов в тканях листа [Боровик, Грабельных, 2018]. Вероятно, что активация АО при повышенных температурах позволяет поддерживать функционирование не только митохондрий, но и фотосинтетического аппарата хлоропластов. Предполагается, что АО вместе с другими антиоксидантными системами контролирует продукцию АФК в растительной клетке, что позволяет избежать окислительного стресса при деэтиоляции [Garmash et al., 2017].

Таким образом, обобщая исследования по функционированию АО в растительных клетках, можно заключить, что участие АО необходимо для развития адаптивных реакций и поддержания жизнеспособности клетки при гипо- и гипертермии как в гетеротрофных тканях, так и в фотосинтезирующих.

Литература

Боровик О.А., Грабельных О.И. Влияние высоких температур на функционирование альтернативной цианид-резистентной оксидазы в митохондриях из листьев яровой пшеницы // Механизмы регуляции функций органелл эукариотической клетки: Материалы докладов II Всероссийской научной конференции с межд. участием, 22-24 мая 2018 г. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – С. 17–18.

Грабельных О.И., Боровик О.А., Таусон Е.Л., Побежимова Т.П., Катышев А.И., Павловская Н.С., Королева Н.А., Любушкина И.В., Башмаков В.Ю., Попов В.Н.,

Боровский Г.Б., Войников В.К. Митохондриальные энергорассеивающие системы (альтернативная оксидаза, разобщающие белки и «внешняя» NADH-дегидрогеназа) вовлечены в развитие морозоустойчивости проростков озимой пшеницы // Биохимия. – 2014. – Т. 79. – С. 645–660.

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Забанова Н.С., Боровик О.А., Войников В.К. Митохондрии растений при стрессе и адаптации к гипо- и гипертермии // Механизмы регуляции функций органелл эукариотической клетки: Материалы докладов II Всероссийской научной конференции с межд. участием, 22-24 мая 2018 г. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – С. 27–29.

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Павловская Н.С., Королева Н.А., Боровик О.А., Любушкина И.В., Войников В.К. Антиоксидантная функция альтернативной оксидазы в митохондриях озимой пшеницы при холодовом закаливании // Биологические мембраны. – 2011. – Т. 28, № 4. – С. 274–283.

Garmash E.V., Velegzhaninov I.O., Grabelnych O.I., Borovik O.A., Silina E.V., Voinikov V.K., Golovko T.K. Expression profiles of genes for mitochondrial respiratory energy-dissipating systems and antioxidant enzymes in wheat leaves during de-etiolation // J. Plant Physiology. – 2017. – V. 215 – P. 110–121.

Grabelnych O.I., Borovik O.A., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Lyubushkina I.V., Zabanova N.S., Voinikov V.K. Changes of *Aox1a* expression, encoding mitochondrial alternative oxidase, influence on the frost-resistance of Arabidopsis plants // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. – 2016. – V. 12, N 4. – P. 78–90.

Lambers H., Robinson A., Ribas-Carbo M. Regulation of respiration *in vivo* // Plant Respiration: From Cell to Ecosystem. Lambers H. and Ribas-Carbo M. (eds.), Springer, Hamburg, 2005. – P. 1–15.

Umbach A.L., Fiorani F., Siedow J.N. Characterization of transformed Arabidopsis with altered alternative oxidase levels and analysis of effects on reactive oxygen species in tissue // Plant Physiol. – 2005. – V. 139. – P. 1806–1820.

Vanlerberghe G.C. Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants // Int. Mol. Sci. – 2013. – V. 14. – P. 6805–6847.

MITOCHONDRIAL ALTERNATIVE OXIDASE AND PLANT RESISTANCE TO HYPO- AND HYPERTERMIA

O.I. Grabelnych^{1,2}, T.P. Pobezhimova¹, O.A. Borovik¹, N.S. Zabanova^{1,2}, A.V. Stepanov¹, I.V. Lyubushkina^{1,2}, A.V. Korsukova^{1,2}, V.K. Voinikov¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, grolga@sifibr.irk.ru

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

Abstract. Data on the participation of mitochondrial alternative cyanide-resistant oxidase (AOX) in the response of plants to the action of low and high temperatures are presented. The high potential activity of AOX is shown at long action of low and high temperatures on shoots of wheat seedlings. With the use of plants, a suspension culture of cells and protoplasts of Arabidopsis with altered expression of *AOX1a*, the protective role of alternative oxidase at temperature stress is shown.

Keywords: temperature stress, mitochondria, alternative oxidase, *AOX1a*