

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПУТИ ДЫХАНИЯ ТЕПЛОЛЮБИВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

Е.Н. Икконен¹, О.И. Грабельных², Е.Г. Шерудило¹, Т.Г. Шибаета¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, likkonen@gmail.com

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, grolga@sifibr.irk.ru

Аннотация. Изучали влияние кратковременных понижений температуры (ДРОП) на активность путей дыхания растений огурца, томата и перца. Показано, что действия ДРОП могут вызывать изменения в энергетическом метаболизме митохондрий, затрагивающие активность цитохромного (ЦП) и альтернативного (АП) путей дыхания. При этом АП в большей степени, чем ЦП зависит от изменений температуры, что может отражать преобладающий вклад ЦП в формирование устойчивости дыхания теплолюбивых видов к действию низкой температуры.

Ключевые слова: пути дыхания, температура, теплолюбивые растения

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-384-388

В растительных митохондриях различают два пути транспорта электронов с пула убихинона – цитохромный (ЦП), заканчивающийся на цитохром *c* оксидазе, и альтернативный (АП), связанный с активностью альтернативной цианид-резистентной оксидазы. Гипотермия вызывает преобразования в дыхательном метаболизме растительных клеток [Головко, 1999], которые могут сопровождаться изменением активности и доли путей дыхания, при этом степень активизации путей дыхания зависит от длительности и напряженности температурного фактора [Гармаш, Головко, 2011]. У растений, длительное время растущих в низкотемпературных условиях, отмечено повышение интенсивности митохондриального дыхания [Gorsuch et al., 2010], что может быть связано со стимулированием АП дыхания [Грабельных и др., 2011]. Кратковременные ежесуточные понижения температуры (ДРОП-воздействия, от англ. *drop* – падение) также могут усиливать интенсивность дыхания теплолюбивых видов растений [Икконен и др., 2018], однако не ясно, за счет активизации какого из путей дыхания происходит данное усиление. Задачей исследования являлась оценка влияния ДРОП-воздействий на активность, соотношение и температурную зависимость ЦП и АП дыхания на примере трех теплолюбивых видов (огурец, томат и сладкий перец).

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Кураж F1), томата (*Solanum lycopersicum* L., гибрид Верлиока F1) и сладкого перца (*Capsicum annuum* L., с. Нежность) выращивали при температуре воздуха 23/20°C день/ночь, 300 мкмоль/(м² с) ФАР, фотопериоде 16 ч. Растения, начиная с возраста 7-ми суток, ежедневно в течение 13 суток переносили в конце темного периода на 2 ч в камеру с температурой 12°C (вариант ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4) или 1°C (ДРОП1). Также часть растений огурца в возрасте 14 суток была перенесена на 6 суток в камеру с температурой 12°C (НТ). Интенсивность дыхания определяли полярографически с использованием электрода Кларка (Oxygraph System Plus, Hansatech, UK). Интенсивность поглощения кислорода растительным материалом в буферном растворе 100 мМ НЕРЕС (рН 7.5), не содержащем ингибитора альтернативного пути дыхания (30 мМ салицилгидроксамовой кислоты, SHAM), была принята за общее дыхание (V_t), а в буферном растворе, содержащем SHAM – за совместное цитохромное и остаточное

дыхание (V_{cyt}). Остаточное, немитохондриальное дыхание, как правило, не превышает 10% от общего [Garmash et al., 2015] и не является температурозависимым [Atkin et al., 2002], поэтому предполагаем, что изменения параметра V_{cyt} в результате низкотемпературных воздействиях, использованных в данной работе, отражают в основном реакцию ЦП, а не остаточного дыхания, которое в данной работе игнорировали. Различия в скоростях поглощения кислорода из буфера, не содержащего и содержащего SHAM, рассчитывали как скорость АП дыхания (V_{alt}). Долю АП в общем дыхании листьев растений определяли как V_{alt}/V_t . С целью исследования температурной зависимости общего, ЦП и АП дыхания измерения проводили при температуре буферного раствора 15°, 25° и 35°C. Температурную чувствительность дыхания выражали посредством величины Q_{10} , показывающей во сколько раз изменяется скорость процесса при изменении температуры на 10°C.

Таблица 1.

Доля альтернативного пути в общем дыхании листьев огурца, томата и перца, не подвергавшихся (Контроль) и подвергавшихся кратковременному (2 ч) ежедневному понижению температуры до 12°C (ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4), 1°C (ДРОП1) или продолжительному действию низкой температуры (НТ)

	Контроль	ДРОП12	ДРОП8	ДРОП4	ДРОП1	НТ
Огурец 15°C	0.33	0.31	0.26	0.25	0.30	0.24
25°C	0.38	0.35	0.38	0.50	0.22	0.19
35°C	0.63	0.57	0.56	0.46	0.30	ns
Томат 25°C	0.28	0.15	0.32	0.27	–	–
Перец 25°C	0.26	0.34	0.34	0.31	–	–

Примечание: ns означает отсутствие достоверности различий средних значений дыхания без и с ингибитором SHAM при уровне значимости $P < 0.05$ и, следовательно, отсутствие потока электронов по альтернативному пути транспорта; – означает отсутствие данных.

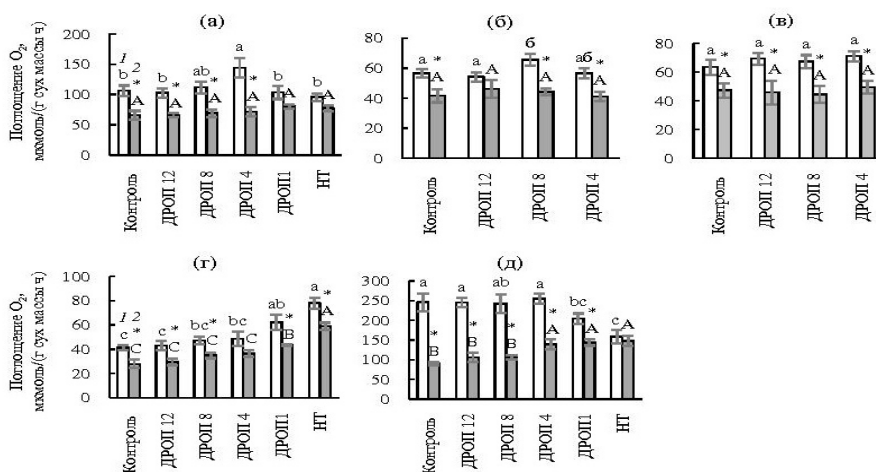


Рисунок. Темновое дыхание листьев огурца (а, г, д), томата (б) и перца (в) без ингибитора (1) и с ингибитором (2) альтернативного пути дыхания (SHAM), не подвергавшихся (Контроль) и подвергавшихся кратковременному (2 ч) ежедневному (13 суток) понижению температуры до 12°C (ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4) и 1°C (ДРОП1) и продолжительному (6 суток) действию низкой (12°C) температуры (НТ). Измерения выполнены при температуре листа 15°C (г), 25°C (а, б, в) и 35°C (д). В пределах каждого параметра разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости $P < 0.05$. * означает достоверность различий средних значений дыхания без ингибирования и с ингибированием SHAM альтернативного пути дыхания для каждого варианта опыта отдельно.

При температуре измерения 25°C действие ДРОП на растения не повлияло на $V_{\text{сут}}$ листьев независимо от вида растений, но могло вызывать повышение V_t (рис.) за счет усиления потока электронов по АП с увеличением доли данного пути в общем дыхании (табл. 1). Влияние низкой температуры разной интенсивности на дыхание и соотношение путей дыхания в листьях огурца проявлялось в большей степени при температурах, отличных от оптимальной. При температуре измерения 15°C величина V_t последовательно возрастала в ряду ДРОП12–ДРОП8–ДРОП4–ДРОП1–НТ, достигая в варианте НТ превышения контрольных значений на 90% (рис. г). При этом чувствительность дыхания растений данного ряда к ингибитору SHAM изменялась незначительно, и усиление общего дыхания осуществлялось за счет повышения скорости $V_{\text{сут}}$. При 15°C растения вариантов ДРОП12, ДРОП8 и ДРОП4 демонстрировали только тенденцию к увеличению $V_{\text{сут}}$, но в листьях вариантов ДРОП1 и НТ данные значения превышали контрольные в 1.5 и 2 раза, соответственно. С повышением температуры измерения до 35°C чувствительность дыхания листьев огурца к ингибитору SHAM существенно возрастала (рис. д), то есть возрастала доля АП в общем дыхании (табл. 1). Однако в высокотемпературных условиях доля АП снижалась у растений, подвергавшихся ранее действию низкой температуры, причем степень данного снижения была прямо пропорциональна напряженности низкотемпературного фактора (табл. 1). В отличие от продолжительного действия низкой температуры, в результате которого температурная чувствительность (Q_{10}) ЦП и АП существенно снижалась, ДРОП-воздействия мало повлияли на отклик путей дыхания на изменение температуры (табл. 2). Величина Q_{10} была выше у АП, чем ЦП дыхания независимо от температуры ДРОП за исключением варианта снижения температуры до 1°C.

Таблица 2.

Величина Q_{10} общего, ЦП и АП дыхания листьев огурца, не подвергавшихся (Контроль) и подвергавшихся кратковременному (2 ч) ежесуточному (13 суток) понижению температуры до 12°C (ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4), 1°C (ДРОП1) или продолжительному (6 суток) действию низкой (12°C) температуры (НТ)

	Контроль	ДРОП12	ДРОП8	ДРОП4	ДРОП1	НТ
Общее дыхание	2.1	2.0	1.9	2.0	1.4	0.8
ЦП + ост.	1.4	1.5	1.3	1.6	1.4	1.0
АП	2.8	2.7	2.8	2.7	1.3	ns

Примечание: ns сообщает об отсутствии достоверности различий средних значений дыхания без и с ингибитором SHAM при уровне значимости $P < 0.05$, что означает отсутствие потока электронов по альтернативному пути транспорта.

Результаты показали, что у теплолюбивых видов растений даже при оптимальных условиях роста наряду с ЦП дыхания функционирует АП, который, возможно, используется как быстрый механизм защиты от понижений температуры и для поддержания внутриклеточного тепла. Кратковременные периодические понижения температуры вызывали изменения в энергетическом метаболизме митохондрий, которые затрагивали активность как цитохромного, так и альтернативного путей транспорта электронов в ЭТЦ. Непродолжительные и незначительные понижения температуры могли стимулировать активизацию АП у теплолюбивых видов растений, но повышение напряженности или длительности низкотемпературного воздействия ингибировало активность альтернативной оксидазы и снижало долю АП в общем дыхании. Стимуляция ЦП дыхания у листьев огурца действиями ДРОП проявлялась в основном при температурах, отличных от оптимальной. При низкой температуре растения, подвергавшиеся действию ДРОП, усиливали дыхание за счет повышения

митохондриального транспорта электронов по ЦП. При высоких температурах активизация ЦП у листьев, испытывавших ранее ДРОП-воздействия, компенсировалась снижением активности АП без изменения интенсивности общего дыхания. У растений, подвергавшихся кратковременным понижениям температуры до значений, близких к нулю, или испытывавших длительное действие низкой температуры, при высокой температуре общее дыхание снижалось из-за частичного или даже полного прекращения потока электронов по АП, несмотря на повышение активности ЦП. Результаты данной работы выявили различие в отклике АП и ЦП дыхания у теплолюбивых видов растений на изменение температуры, что может влиять на смещение их соотношения в общем дыхании и играть важную роль в формировании температурной чувствительности дыхания, а, следовательно, и устойчивости процесса к действию низкой температуры. Альтернативный окислительный путь, как было определено, в большей степени, чем цитохромный зависит от изменений температуры, что может отражать преобладающий вклад ЦП в формирование устойчивости дыхания теплолюбивых видов к действию низкой температуры. Таким образом, у теплолюбивых видов растений АП играет важную роль в дыхательном метаболизме клетки и, вероятно, участвует в ее быстрой защите при изменении условий, однако основным механизмом повышения устойчивости дыхания к температурному стрессу, видимо, является ЦП.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0051) и частично за счет РФФИ (14-04-00840а). Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН».

Литература

Гармаш Е. В., Головки Т. К. Влияние скорости роста ячменя, выращиваемого при разных температурах и обеспеченности минеральным питанием, на активность альтернативного пути дыхания растений // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т. 43, № 2. – С. 113–121.

Головки Т. К. Дыхание растений. Физиологические аспекты. – С-Пб.: Наука, 1999. – 229 с.

Грабельных О. И., Побежимова Т. П., Корзун А. М., Возненко С. А., Королева Н. А., Павловская Н. С., Боровик О. А., Войников В. К. Участие цианид-резистентного дыхания в термогенерации и антиокислительной защите клетки в проростках озимой пшеницы при холодовом воздействии // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2011. – V. 7, N. 4. – P. 447–456.

Икконен Е. Н., Шибеева Т. Г., Титов А. Ф. Влияние кратковременных ежесуточных понижений температуры на соотношение дыхания и фотосинтеза у теплолюбивых растений // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 1. – С. 45–51.

Atkin O. K., Zhang Q., Wiskich J. T. Effect of temperature on rates of alternative and cytochrome pathway respiration and their relationship with the redox poise of the quinone pool // Plant Physiol. – 2002. – V. 128. – P. 212–222.

Garmash E. V., Grabelnych O. I., Velegzhaniniv I. O., Borovik O. A., Dalke I. V., Voinikov V. K., Golovko T. K. Light regulation of mitochondrial alternative oxidase pathway during greening of etiolated wheat seedlings // Journal of Plant Physiology. – 2015. – V. 174. – P. 75–84.

Gorsuch P. A., Pandey S., Atkin O. K. Temporal heterogeneity of cold acclimation phenotypes in *Arabidopsis* leaves // Plant Cell Environ. – 2010. – V. 33. – P. 244–258.

EFFECT OF A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP ON THE PATHWAYS OF RESPIRATION IN CHILLING SENSITIVE PLANTS

E.N. Ikkonen¹, O.I. Grabelnykh², E.G. Sherudilo¹, T.G. Shibaeva¹

¹Institute of Biology, Karelian Research Center of RAS, Petrozavodsk, Russia,
likkonen@gmail.com

²Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of RAS,
Irkutsk, Russia, *grolga@sifibr.irk.ru*

Abstract. The effect of a short-term daily temperature drop (DROP) on the activity of the respiratory pathways in cucumber, tomato and sweet pepper plants has been studied. It is shown that DROP treatments may cause changes in the energy metabolism of mitochondria, affecting the activity of cytochrome (CP) and alternative (AP) respiratory pathways. The AP depends on temperature changes stronger than the CP, which may reflect the predominant contribution of the CP to the resistance of the respiration to low temperature in chilling-sensitive plant.

Keywords: *respiratory pathways, temperature, chilling-sensitive plants*