

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ЦИАНИД-РЕЗИСТЕНТНОЙ ОКСИДАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

О.А. Боровик¹, О.И. Грабельных^{1,2}

¹ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, email: ol.borovik@mail.ru

²ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск

Альтернативную цианид-резистентную оксидазу (АО) растений называют белком «выживания», так как активация экспрессии ее генов происходит под действием широкого спектра стрессовых воздействий. Однако остается множество вопросов о функционировании АО в митохондриях и механизмах ее регуляции в стрессовых условиях. Дыхание и фотосинтез занимают центральную роль в метаболизме растительной клетки, и устойчивость этих процессов к действию стрессовых факторов крайне важна для поддержания жизнедеятельности и является определяющим фактором для адаптации растений (Туманов, 1979; Климов, 1998). В последние годы появляется все больше информации о возможном участии АО в становлении фотосинтетического аппарата растений и его защите от фотоингибирования при избыточном освещении (Noguchi and Yoshida, 2008; Garmash et al., 2015; Zhang et al., 2017). Участие митохондрий, в частности альтернативного цианид-резистентного пути дыхания, связанного с функционированием АО, в формировании механизмов защиты растений от низкотемпературного стресса в настоящее время очевидно. Ранее нам было показано, что низкие температуры приводят к активации АО в митохондриях как из этиолированных проростков и листьев, так и из зеленых листьев (Grabelnych et al., 2014; Borovik and Grabelnych, 2016, 2017). Выявлена зависимость функционирования альтернативного цианид-резистентного пути дыхания от обеспеченности растений сахарами при действии низкой температуры и морозоустойчивостью растений (Grabelnych et al., 2014; Borovik and Grabelnych, 2016, 2017). Повышение активности АО при окислении митохондриями глицина после холодого закаливания в условиях непрерывного освещения указывает на важную роль АО в поддержании процессов фотодыхания в условиях низкой температуры (Borovik and Grabelnych, 2017). О функционировании альтернативной оксидазы в митохондриях при действии на растения высоких температур известно очень мало, в основном эти данные связаны с влиянием высокой температуры на уровень экспрессии ее генов. В связи с этим целью работы явилось изучение влияния теплового закаливания и последующего теплового стресса на функционирование альтернативного цианид-резистентного пути дыхания и оценка зависимости его функционирования от теплоустойчивости растений и содержания в листьях водорастворимых углеводов. В работе были использованы зеленые растения яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. (сорт Новосибирская 29). Растения были выращены, закалены и подвергнуты стрессовым обработкам в камерах тепла/холода «Binder» опытной станции Фитотрон СИФИБР СО РАН. Растения выращивали при температуре 23/20 °С (день/ночь), 16 часовом фотопериоде. Освещенность при выращивании, закаливании и стрессировании – 200-250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Тепловое закаливание растений осуществляли при 39 °С в течение 3 ч и 24 ч на свету. Закаленные и контрольные растения были подвергнуты действию стрессующей температуры 50 °С в течение 1, 3 и 5 ч. Анализировали выживаемость растений, содержание водорастворимых углеводов, интенсивность дыхания, активность цитохромного и альтернативного цианид-резистентного путей дыхания. Для анализа содержания в листьях белков теплового шока (БТШ), водорастворимых углеводов и изолирования из листьев митохондрий использовалась средняя часть листа. Эффективность

теплового закаливания определяли по выживаемости растений после теплового стресса и накоплению в листьях БТШ. Выживаемость оценивалась по выходу электролитов из клеток листьев после закаливания и стрессовых обработок. Дыхательную активность изолированных из листьев митохондрий изучали полярографическим методом. В качестве субстрата дыхания использовали 10 мМ малат в присутствии 10 мМ глутамата. Для ингибирования цитохромного пути дыхания использовали 1,2 мМ KCN (ингибитор цитохром *c* оксидазы), для ингибирования альтернативного цианид-резистентного пути дыхания – 3 мМ БГК (ингибитор АО).

Тепловое закаливание эффективно повышало теплоустойчивость растений. После закаливания и последующего теплового стресса в листьях яровой пшеницы были отмечены изменения в содержании БТШ. Закаливание приводило к увеличению содержания водорастворимых углеводов в листьях в 2 раза, что указывает на эффективную работу фотосинтетического аппарата в условиях повышенных температур. Не было отмечено положительной корреляции между содержанием водорастворимых углеводов и интенсивностью дыхания. После теплового закаливания наблюдали увеличение содержания водорастворимых углеводов; дыхательная активность митохондрий значительно не изменялась, однако было отмечено значительное увеличение вклада в дыхание альтернативного цианид-резистентного пути. Увеличение вклада АО в дыхание на фоне повышенного содержания водорастворимых углеводов в листьях указывает на ее важную роль в адаптации фотосинтезирующих растений к высоким температурам. Вероятно, что активация АО при повышенных температурах позволяет поддерживать функционирование не только митохондрий, но и фотосинтетического аппарата хлоропластов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-74-10096).

Литература

Грабельных О.И., Боровик О.А., Таусон Е.Л., Побежимова Т.П., Катыхшев А.И., Павловская Н.С., Королева Н.А., Любушкина И.В., Баймаков 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, вып. 6. – С. 647–662.

Климов С.В. Повышенное соотношение фотосинтез/дыхание при низких температурах – важное условие холодого закаливания озимой пшеницы // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 3. – С. 419–424.

Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. – М.: Наука, 1979. – 352 с.

Borovik O.A., Grabelnych O.I. Distribution of the respiratory pathways in the isolated mitochondria from etiolated leaves of winter wheat and rye after the action of low temperature // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2016. – V. 12, N 4. – P. 38–49.

Borovik O., Grabelnych O. The relationships among an activity of the alternative pathway respiratory flux, a content of carbohydrates and a frost-resistance of winter wheat // FEBS Journal. – 2017. – V. 284, Suppl. 1. – P. 366–367.

Garmash E.V., Grabelnych O.I., Velegzhaninov 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 // J. Plant Physiol. – 2015. – V. 1, N 174. – P. 75–84.