

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА СОДЕРЖАНИЕ СТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ ФОТОСИСТЕМ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ, ОБРАБОТАННЫХ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Т.Г. Курьянчик, Н.В. Козел

Институт биофизики и клеточной инженерии

Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь, t.kuryanchuk@gmail.com

Введение. Ячмень – это зерновая культура, которая занимает ведущее место в сельскохозяйственном производстве Беларуси. Различные абиотические факторы окружающей среды, такие как засуха, засоление, высокая или низкая температура и многие другие влияют на все стадии роста и развития растений и способны приводить к изменению критически важных физиологических и биохимических процессов в растительном организме. Фотосинтез, как один из основных биологических процессов, также подвергается сильному воздействию стрессовых факторов. Стресс, вызванный засухой, и последующее снижение водного статуса клеток отрицательно влияет на скорость фотосинтеза, ограничивая диффузию CO_2 через устьица, и потенциально вызывает образование высокореактивных и цитотоксичных молекул – активных форм кислорода (АФК), которые способны повредить фотосинтетический аппарат (ФСА) растительной клетки, что, в конечном итоге, приводит к значительным потерям урожая [1].

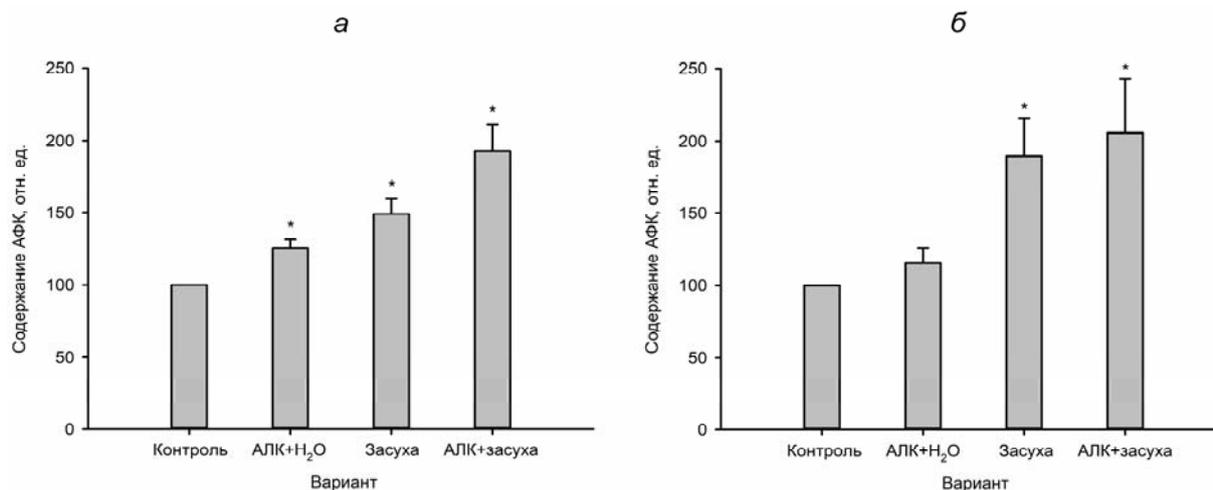
В условиях засухи ключевую роль играют адаптационные механизмы, в том числе и механизмы адаптации ФСА, позволяющие растению преодолеть стрессовое воздействие [2]. Экзогенное применение различных небольших молекул или регуляторов роста растений – хорошо известный метод повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды [3]. В последние годы большой интерес и популярность в сельском хозяйстве, и, в частности, в растениеводстве, приобретает использование 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) – важнейшего метаболита растительной клетки, которая в низких концентрациях положительно влияет на рост и развитие растений в стрессовых условиях [4].

Целью данной работы являлось изучение влияния АЛК в концентрации 10 мг/л на содержание основных структурных белков фотосистем (ФС) в листьях проростков ячменя в условиях окислительного стресса, индуцированного почвенной засухой.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования в данной работе использовали 1-й настоящий лист зеленых 7-дневных проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) засухоустойчивого сорта «Бровар» [5] и сорта «Аванс», выращенных в лабораторных условиях в режиме 14 ч света (интенсивность 6 тыс. люкс) и 10 ч темноты под люминесцентными лампами Philips TD-36/765 при температуре $23 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 30% в нормальных условиях (ежедневный полив водопроводной водой) и при засухе (растения не поливали с момента посадки в почву). Обработка АЛК в концентрации 10 мг/л производилась мелкодисперсным опрыскиванием на 4 сут после высадки в грунт. Варианты экспериментов были следующими: 1) Контроль: осуществляли ежедневный полив водопроводной водой, растения без обработки; 2) АЛК+ H_2O : осуществляли ежедневный полив водопроводной водой, растения, обработанные АЛК; 3) Засуха: без полива, растения без обработки; 4) АЛК+засуха: без полива, растения, обработанные АЛК.

Определение общего содержания АФК *in vitro* проводили с помощью флуоресцентного зонда – 2,7-дихлорфлуоресцеин диацетата (ДХФ-ДА), который после деацетилирования окисляется до флуоресцентного соединения ДХФ активными формами кислорода, такими как H_2O_2 , $\cdot OH$, $ROO\cdot$ и др. [60]. Выделение из растений белков, их электрофоретическое разделение в полиакриламидном геле и вестерн-блоттинг с поликлональными антителами фирмы «AgriSeta» на белки ФС выполняли, как описано в работе [7].

Результаты и их обсуждение. Для оценки степени стрессового воздействия на растения ячменя почвенной засухи мы проанализировали накопление в листьях опытных и контрольных вариантов общего количества АФК. Результаты, представленные на рисунке 1, четко демонстрируют индукцию окислительного стресса под действием почвенной засухи – во всех опытных вариантах мы наблюдали существенное (до 100%) увеличение содержания АФК в листьях ячменя.

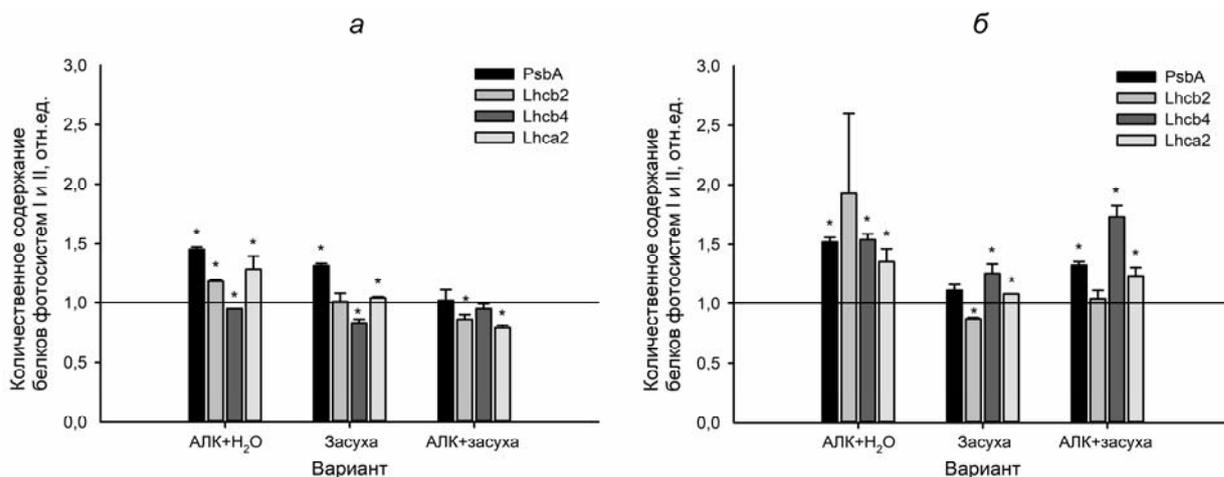


* – различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$

Рисунок 1. – Изменение содержания АФК в листьях растений ячменя сортов «Бровар» (а) и «Аванс» (б), обработанных АЛК, под воздействием почвенной засухи

Однако обращают на себя внимание два факта. Во-первых, обработка растений АЛК как в опытных (АЛК+засуха), так и контрольных вариантах (АЛК+H₂O) в обоих сортах приводила к увеличению количества АФК по сравнению с необработанными растениями, что может быть причиной активации под действием малых концентраций АЛК метаболических процессов, в первую очередь фотосинтеза и дыхания [4, 8]. Во-вторых, нужно отметить более высокие содержания АФК в условиях засухи в листьях ячменя сорта «Аванс» по сравнению с сортом «Бровар», что указывает на более интенсивное развитие окислительного стресса в растениях этого сорта при засухе.

Для определения количества основных структурных белков ФС в листьях проростков ячменя, обработанных АЛК в условиях засухи, проводили вестерн-блот анализ с использованием антител на белки ФС II – PsbA (белок D1 реакционного центра ФС II), Lhcb2 и Lhcb4 (белки антенны ФС II), и белок антенны ФС I Lhca2. Анализ содержания основных структурных белков ФС показал принципиально разную регуляцию синтеза этих компонентов хлоропластных мембран в ответ на действие почвенной засухи в сочетании с обработкой растений АЛК для сортов «Бровар» и «Аванс». Так, в листьях ячменя сорта «Бровар» при нормальном поливе АЛК стимулировала синтез белков ФС II – белка реакционного центра ФС II PsbA, белка внешней антенны ФС II Lhcb2, а также белка антенны ФС I Lhca2 (рисунок 2). При действии почвенной засухи обработка листьев АЛК, наоборот, приводила к снижению содержания белков антенных комплексов ФС, что является эффективным фотопротекторным механизмом защиты ФСА в таких условиях. Для сорта «Аванс» мы наблюдали противоположный ответ растительной клетки на обработку листьев АЛК в условиях засухи – количество всех проанализированных белков увеличивалось как относительно контроля, так и относительно варианта Засуха, что потенциально опасно с точки зрения развития в таких растениях фотоокислительного стресса при недостатке влаги.



контроль принят за 1 и представлен базовой линией; * – различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0,05$

Рисунок 2 – Изменение содержания белков ФС в листьях растений ячменя сортов «Бровар» (а) и «Аванс» (б), обработанных АЛК, под воздействием почвенной засухи

Полученный результат может объяснить существенно более интенсивное развитие окислительного стресса в растениях сорта «Аванс» по сравнению с сортом «Бровар» при действии почвенной засухи, отмеченное нами ранее, и указывает на наличие у сорта «Бровар» дополнительных механизмов, связанных с регуляцией синтеза структурных компонентов фотосинтетических мембран и определяющих его засухоустойчивость.

Заключение. Таким образом, установлено, что при засухе обработка листьев растений ячменя сорта «Бровар» АЛК вызывает снижение содержания белков антенных комплексов ФС, что приводит к уменьшению размера светособирающей антенны и является эффективным механизмом защиты ФСА в таких условиях. Для сорта «Аванс» наблюдался противоположный ответ растительной клетки на обработку листьев АЛК в условиях засухи – количество всех проанализированных белков фотосистем увеличивалось как относительно контроля, так и относительно варианта Засуха, что потенциально опасно с точки зрения развития в таких растениях фотоокислительного стресса при недостатке влаги.

Список использованных источников

1. Foyer, C. H. Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub / C. H. Foyer, G. Noctor // *Plant Physiology*. – 2012. – Vol. 155, № 1. – P. 2–18.
2. Bartels, D. Drought and Salt Tolerance in Plants / D. Bartels, R. Sunkar // *Critical Reviews in Plant Sciences*. – 2007. – Vol. 24. – P. 24–28.
3. Chan, Z. Improved abiotic stress tolerance of bermudagrass by exogenous small molecules / Z. Chan, H. Shi // *Plant Signal. Behav.* – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. e991577.
4. Влияние 5-аминолевулиновой кислоты на рост растений ячменя и содержание пигментов / Е. Б. Яронская [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сб. ст. VI съезда Белорус. обществ. объедин. фотобиол. и биоф., Минск, 6-8 окт. 2004 г. – Минск, 2004. – Т. 1. – С. 117–119.
5. Технология ДНК-типирования генов устойчивости ячменя к засухе: методические указания / И. Н. Доманская [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2011. – 31 с.
6. Козел, Н. В. Фотоокислительные процессы, индуцированные в растениях ячменя и табака сенситизаторами ксантоеновой природы : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.02 / Н. В. Козел. – Минск, 2009. – 146 с.
7. A point mutation in the photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A1 gene confers variegation in *Helianthus annuus* L. / K. Azarin [et al.] // *Plant Molecular Biology*. – 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-020-00997-x>.
8. Beyzaei, Z. Involvement of nitrate reductase in the ameliorating effect of 5-aminolevulinic acid on NaCl-stressed barley seedlings / Z. Beyzaei, R. A. Sherbakov, N. G. Averina // *Acta Physiol. Plant.* – 2015. – Vol. 37, № 11. – P. 1–8.