



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ВКЛАД ДЕГИДРИНОВ В ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Шакирова Ф.М.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа
E-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

Проведен анализ влияния предобработки метилжасмонатом (МеЖ) в концентрации 100 нМ на физиолого-биохимические показатели растений пшеницы *Triticum aestivum* L. в норме и в условиях обезвоживания, моделируемого присутствием в среде инкубирования 5%-го маннита. Предобработка гормоном 3 сут проростков в нормальных условиях произрастания оказывала на них рост-стимулирующий эффект, и снижала последующее негативное действие обезвоживания на ростовые процессы, о чем судили по показателям биомассы и внешнему виду проростков. МеЖ способствовал также поддержанию целостности мембранных структур при стрессе, о чем свидетельствовали данные по уровню выхода электролитов из тканей и содержанию в них МДА. Важный вклад в реализацию защитного действия МеЖ на растения пшеницы могут вносить дегидрины. В пользу этого предположения служат сведения о способности МеЖ индуцировать транскрипционную активность *TADHN* гена дегидрина и накопление белков дегидринов с М.м. 28 и 55 кДа в норме и дополнительно увеличивать их содержание при стрессе.

Ключевые слова: засуха, пшеница, метилжасмонат, дегидрины, *Triticum aestivum* L.

DEHYDRINES INVOLVEMENT TO THE PROTECTIVE ACTION OF METHYL JASMONATE ON WHEAT PLANTS UNDER DEHYDRATION

Allagulova Ch.R., Avalbaev A.M., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal
Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa
E-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

An analysis of methyl jasmonate (MeJ) pretreatment on the wheat plants *Triticum aestivum* L. subjected to dehydration was performed. The dehydration was designed by the presence of 5% mannitol in the incubation medium. Pretreatment of the 3-d-old seedlings by 100 nM MeJ reduced the dehydration negative effect on growth processes and the integrity of membrane structures. Dehydrins can contribute to the protective action of MeJ on wheat plants. This assumption is supported by data about activation of the *TADHN* dehydrin gene transcription and the accumulation of 28 and 55 kDa dehydrin proteins during MeJ treatment. Moreover plants pretreated with hormone and then subjected to drought characterized by an additional accumulation of dehydrins.

Keywords: drought, wheat, methyl jasmonate, dehydrins, *Triticum aestivum* L.

Поступила в редакцию: 17.08.2019

DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-3-307-311](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-307-311)

ВВЕДЕНИЕ

К числу наиболее разрушительных стрессовых факторов, характеризующихся сложной комбинацией дефицита влаги и других абиотических факторов относится засуха. Развитие устойчивости растений к засухе на клеточном уровне обеспечивается комплексом физиолого-биохимических механизмов, включающих изменения гормональной регуляции метаболизма, перестройки в работе генетического аппарата, направленные на индукцию синтеза стрессовых белков, в частности дегидринов. Дегидрины – LEA белки 2 группы (late embryogenesis abundant) аккумулируются в ходе созревания семян на стадии их обезвоживания и вовлекаются в поддержание жизнеспособности структур зародыша. Присутствие этих генов в арсенале генетических программ, контролирующих развитие

семян, оказалось чрезвычайно полезным и для вегетирующих растений при воздействии абиотических стрессов, вызывающих обезвоживание клетки, индуцирующих синтез и накопление этих белков. Поскольку эндогенная АБК играет ключевую роль в регуляции защитных программ, не удивительно, что гены дегидринов относят к RAB-генам (Responsive to ABA) [Close, 1996; Аллагулова и др., 2003]. В защиту растений от абиотических стрессовых воздействий вовлекаются и другие фитогормоны, в частности, жасмонаты, которые сочетают в себе свойства стимуляторов роста и индукторов защитных реакций [Шакирова и др., 2013; Avalbaev et al., 2016; De Ollas et al., 2016]. Поэтому они весьма привлекательны для практического использования с целью повышения стресс-устойчивости и продуктивности разных культурных растений. Учитывая, что засуха является одним из наиболее широко распространенных факторов внешней среды, лимитирующим рост и продуктивность растений [Carvalho et al., 2008; Osakabe et al., 2014], особый интерес вызывает исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе индуцированной жасмонатами устойчивости растений к обезвоживанию и вовлечение дегидринов в этот процесс. Цель работы заключалась в выявлении участия *TADHN* гена дегидрина, а также белков дегидринов в проявлении защитного эффекта метилжасмоната (МеЖ) на растения пшеницы, подвергнутых обезвоживанию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили 3-5 суточные проростки пшеницы *Triticum aestivum* L. Проростки предобрабатывали 24 ч 100 нМ МеЖ, после чего подвергали обезвоживанию, которое моделировали присутствием в среде инкубирования проростков 5%-го маннита. Транскрипцию *TADHN* гена дегидрина анализировали с помощью ОТ-ПЦР [Аллагулова и др., 2007]. Содержание дегидринов определяли методом иммуноблоттинга с использованием антител к высоко консервативному К-сегменту дегидринов [Close 1996]. О росте судили по накоплению сырой массы и внешнему виду проростков. На рисунках представлены данные средних арифметических трех–четырёх независимых опытов, и стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предобработка МеЖ способствовала активации роста проростков, что согласуется с полученными ранее данными о рост-стимулирующей активности МеЖ [Шакирова и др., 2013; Avalbaev et al., 2016]. 24-часовое воздействие 5%-го маннита тормозило накопление сырой массы, что отразилось и на внешнем виде проростков. Предобработанные МеЖ проростки характеризовались существенно меньшим уровнем повреждающего действия дефицита влаги на показатели роста (Рис. 1 а, б).

Одной из наиболее многочисленных групп белков, накапливаемых в растениях в условиях дефицита влаги, являются дегидрины [Close et al., 1996, Аллагулова и др., 2003; Nara, 2010]. В связи с чем можно предположить их вовлечение в защитный эффект жасмонатов на растения пшеницы при обезвоживании. Для проверки этого предположения был проведен анализ транскрипционной активности *TADHN* гена дегидрина в проростках пшеницы в ходе их обработки МеЖ в норме, а также в предобработанных гормоном и подвергнутых 5 %-му манниту проростках. Сама обработка проростков 100 нМ МеЖ в норме усиливала транскрипционную активность *TADHN* гена, с максимумом, приходящимся на 9 ч обработки. (Рис. 2, а). Обезвоживание вызвало в проростках поступательное увеличение содержания транскриптов *TADHN* гена в ходе всего опыта (Рис. 2, б). Предобработка

проростков МеЖ способствовала дополнительному индуцируемому стрессом увеличению уровня транскриптов *TADHN* гена, что может указывать на вовлечение дегидринов в защитное действие жасмонатов на растения пшеницы к дефициту влаги.

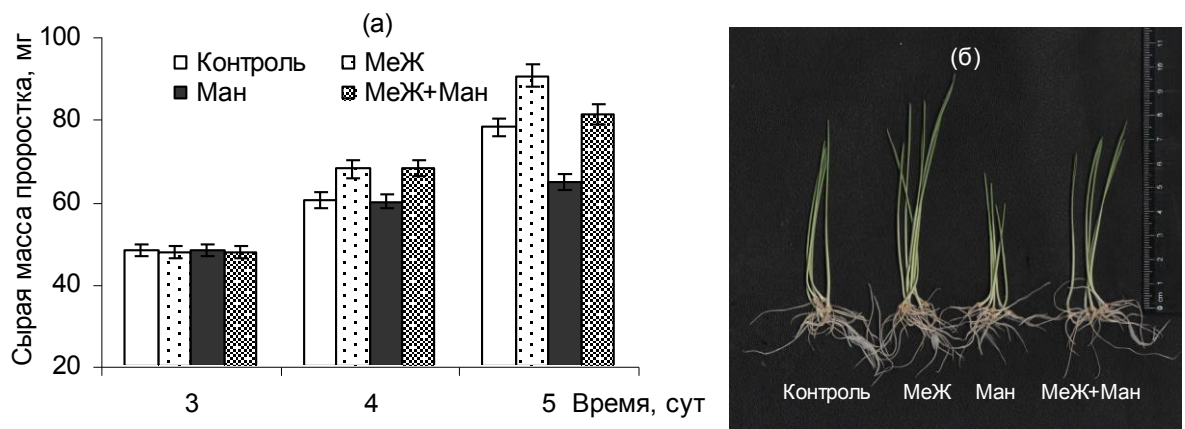


Рис. 1. Сырая масса (а) и внешний вид (б) 5-сут проростков пшеницы, предобработанных 100 нМ МеЖ и подвергнутых воздействию обезвоживания, моделируемого присутствием в среде инкубирования 5 %-го маннита.

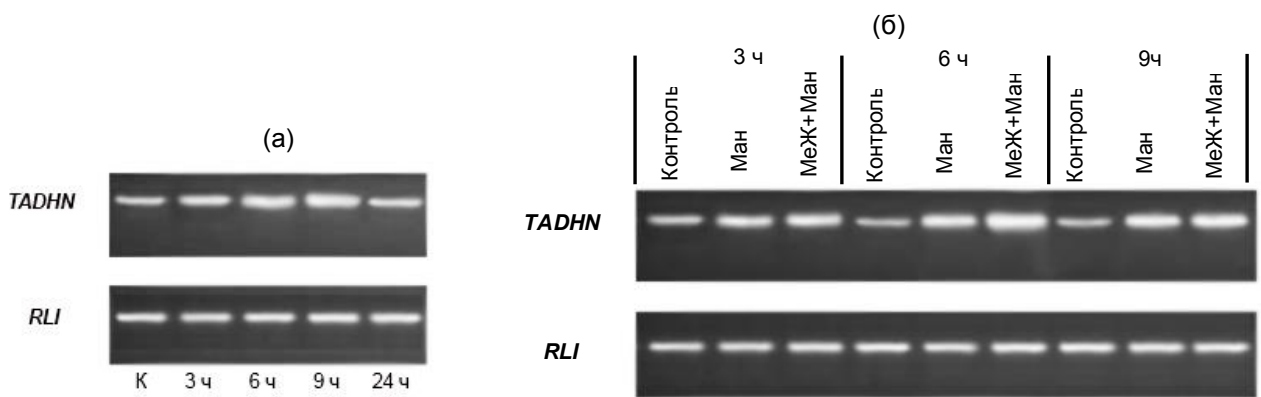


Рис. 2. Динамика накопления транскриптов *TADHN* гена в 4-сут проростках пшеницы в ходе их обработки 100 нМ МеЖ в норме (а), и в предобработанных в течение 24 ч МеЖ проростках и подвергнутых воздействию 5 %-го маннита в течение 3, 6 и 9 ч (б).

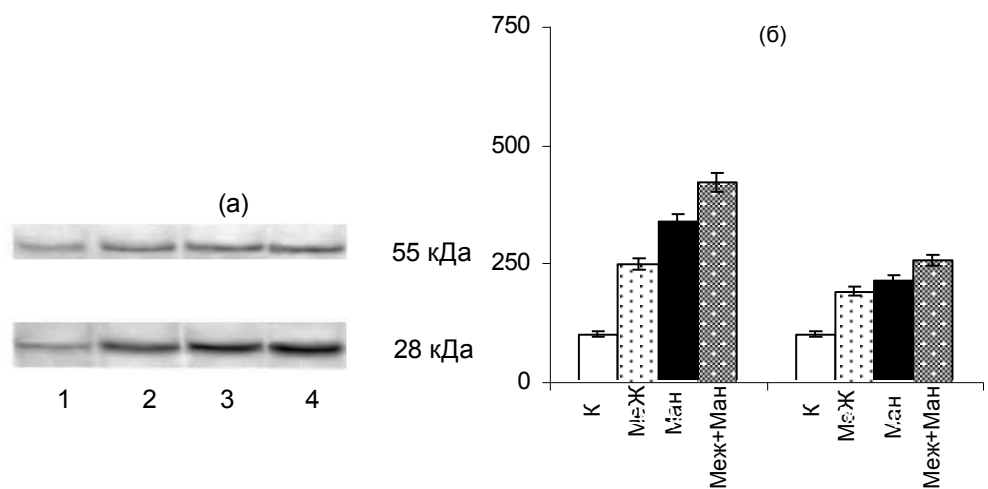


Рис. 3. Накопление белков дегидринов с Мм 28 и 55 кДа (а) и количественная оценка изменений в их содержании (б) в 5-ти суточных проростках пшеницы, предобработанных в течении 24 часов 100 нМ МеЖ и подвергнутых 24-часовой обработке 5 %-ым маннитом.

Доказательством в пользу этого предположения служат данные, полученные методом иммуноблоттинга о накоплении самих белков дегидринов под влиянием обработки МеЖ. При этом наиболее значимые изменения наблюдались в содержании 28 кДа и 55 кДа дегидринов (Рис. 3). Присутствие маннита в среде инкубирования проростков, вызывало в более чем 2-кратное и 1,5-кратное накопление 28 кДа и 55 кДа дегидринов, соответственно. Предобработка МеЖ способствовала дополнительному усилению синтеза дегидриновых белков (Рис. 3).

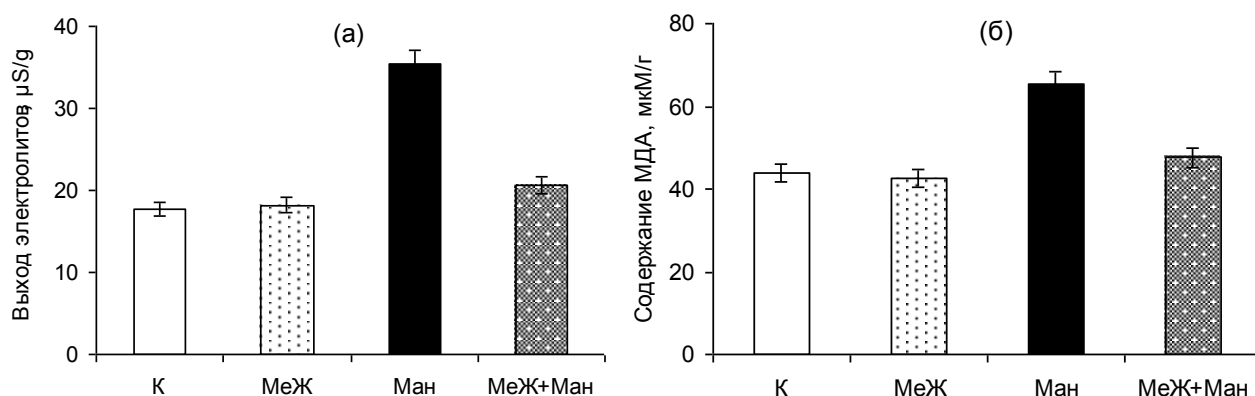


Рис. 4 Выход электролитов (а) и содержание МДА (б) в тканях 5-сут проростков пшеницы предобработанных 24 ч 100 нМ МеЖ и подвергнутых воздействию 5 %-го маннита.

В стрессовых условиях растения испытывают окислительный стресс, возникающий вследствие избыточной генерации активных форм кислорода (АФК), способных вызывать повреждения мембранных структур [Carvalho et al., 2008]. Основываясь на сведениях о способности жасмонатов оказывать влияние на состояние антиоксидантной системы растений [Per 2018], можно было ожидать, что предобработка МеЖ будет способствовать развитию антиоксидантной защиты и нейтрализации стресс-индуцируемой продукции АФК. Это в свою очередь должно найти отражение в уменьшении повреждающего действия засухи на целостность мембран. Предобработка проростков МеЖ способствовала снижению негативного действия моделируемой маннитом засухи на целостность мембранных структур, на что указывают данные по уменьшению уровня стресс-индуцированного экзоосмоса электролитов (Рис. 4а) и накопления МДА (Рис. 4б).

Совокупность полученных результатов позволяет заключить, что МеЖ в оптимальной в стимуляции роста концентрации характеризуются ярко выраженным защитным эффектом на растения пшеницы, подвергнутых обезвоживанию. Предобработка гормоном растений пшеницы существенно снизила уровень негативного действия дефицита влаги на интенсивность ростовых процессов и способствовала поддержанию целостности мембранных структур. Свой вклад в защитное действие МеЖ может вносить индукция под его влиянием транскрипции *TADHN* гена и накопления дегидриновых белков, выполняющих множественные защитные функции в растениях в стрессовых условиях.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-04-01853_a) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аллагулова Ч. Р., Гималов Ф. Р., Шакирова Ф. М., Вахитов, В. А. Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции // Биохимия. 2003. Т. 68. С. 1157-1165.
2. Аллагулова Ч.Р., Гималов Ф.Р., Авальбаев А.М., Сахабутдинова А.Р., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М. Структура дегидрин-подобного гена *TADHN* мягкой пшеницы и участие АБК и 24-эпибрассинолида в активации его экспрессии // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 1. С. 131-136.
3. Шакирова Ф.М., Масленникова Д.Р., Фатхутдинова Р.А., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Сомов К.А. Сравнительный анализ физиологического действия метилжасмоната и цитокинина на растения пшеницы // Агрехимия. 2013. № 2. С. 49–55.
4. Avalbaev A., Yuldashev R., Fedorova K., Somov K., Allagulova C., Shakirova F., Vysotskaya L. Exogenous methyl jasmonate regulates cytokinin content by modulating cytokinin oxidase activity in wheat seedlings under salinity // J. Plant Physiol. 2016. V. 191. P. 101-110. DOI: [10.1016/j.jplph.2015.11.013](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.013)
5. Carvalho M.H.C. Drought stress and reactive oxygen species // Plant Signaling Behaviour. 2008. V.3 (3). P.156-165.
6. Close T.J. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins // Physiol. Plant. 1996. 97. 795-803.
7. De Ollas C., Dodd I.C. Physiological impacts of ABA–JA interactions under water-limitation // Plant Molecular Biology. 2016. V.91. P.641–650. DOI: [10.1007/s11103-016-0503-6](https://doi.org/10.1007/s11103-016-0503-6)
8. Hara M. The multifunctionality of dehydrins. Plant Signal Behav. 2010. 5. 503-508
9. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Tran L.-S.P. Response of plants to water stress // Front. Plant Sci. 2014. V. 5:86. DOI: [10.3389/fpls.2014.00086](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086)
10. Per T.S., Khan M. I. R., Anjum N. A., Masood A., Hussain S. J., Khan N. A. Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters // Environ. Exper. Bot. 2018. V. 145. P. 104–120. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2017.11.004](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.004)