

**ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ  
γ-ГИДРОКСИБУТИРАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ  
ZEA MAYS L.**

Е.В. Плотникова, Г.Б. Анохина, А.Т. Епринцев

*ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Россия*

**Аннотация.** Засоление почвы является одной из основных проблем сельского хозяйства, оно оказывает значительное воздействие на рост и развитие сельскохозяйственных культур. Повышенное содержание солей в почве приводит к увеличению осмотического давления, что затрудняет поступление воды и питательных веществ в растение. Это приводит к изменению метаболизма растений, в частности, нарушается функционирование цикла Кребса, который является основным источником энергии для роста растений. Кроме того, засоление почвы влияет на функционирование ГАМК-шунта, который играет важную роль в регуляции стрессовых реакций у растений. Важную роль в адаптации растений к абиотическим стрессам играет фермент  $\gamma$  – гидроксibuтиратдегидрогеназа. К сожалению, на данный момент функционирование данного энзима в растительной клетке малоизучено. В связи с этим нами было изучено влияние солевого стресса на ферментативную активность ГБДГ в листьях проростков кукурузы. Было показано воздействие засоления индуцирует активность ГБДГ в листьях кукурузы начиная с первого часа инкубации в стрессовой среде.

**Ключевые слова:**  $\gamma$ -гидроксibuтиратдегидрогеназа, солевой стресс, кукуруза, ГАМК-шунт, ферментативная активность

**THE EFFECT OF SALT STRESS ON THE CATALYTIC ACTIVITY  
OF  $\gamma$ -HYDROXYBUTYRATE DEHYDROGENASE IN THE LEAVES  
OF MAIZE ZEA MAYS L.**

E.V. Plotnikova, G.B. Anokhina, A.T. Eprintsev

*Voronezh state university, Voronezh, Russia*

**Abstract.** Soil salinity is one of the main problems in agriculture, and it has a significant impact on the growth and development of agricultural crops. High salt content in the soil leads to increased osmotic pressure, which hinders the uptake of water and nutrients by the plant. This leads to changes in plant metabolism, in particular, disrupting the functioning of the Krebs cycle, which is

the main source of energy for plant growth. In addition, soil salinity affects the functioning of the GABA-shunt, which plays an important role in regulating stress responses in plants. The enzyme  $\gamma$ -hydroxybutyrate dehydrogenase (GBDH) plays an important role in the adaptation of plants to abiotic stresses. Unfortunately, the functioning of this enzyme in plant cells is still poorly understood. Therefore, we studied the effect of salt stress on the enzymatic activity of GBDH in the leaves of corn seedlings. It was shown that salt stress induces GBDH activity in the leaves of corn starting from the first hour of incubation in the stressful environment.

**Keywords:**  $\gamma$ -hydroxybutyrate dehydrogenase, salt stress, maize, GABA-shunt, enzymatic activity

### Введение

Одной из самых распространенных проблем, влияющих на мировое сельское хозяйство, является засоление. Высокие уровни солей в почве могут привести к тому, что растения не смогут нормально поглощать воду и питательные вещества, что приведет к замедлению их роста и развития, нарушению биохимических процессов в клетке, которые могут вызвать гибель растения.

Кукуруза является культурой, которая требует большого количества воды, поэтому засоленные почвы могут серьезно угрожать её урожайности. При этом, засоление может повлиять на содержание минеральных элементов в растениях, что отразится на их качестве и питательной ценности.

В условиях засоления происходит сбой в работе цикла Кребса – основного компонента дыхательного метаболизма растений [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. При этом в клетке начинает функционировать компенсаторный механизм – шунт  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК-шунт).

ГАМК – широко распространённая среди всех живых организмов небелковая аминокислота. ГАМК играет важную роль в жизнедеятельности высших растений: участвует в регуляции фотосинтеза, роста, развития, а также ответа на стрессовые воздействия.

Метаболизм ГАМК осуществляется по особому короткому пути известному как ГАМК-шунт, который обходит две реакции цикла Кребса.

Янтарная полуальдегиддегидрогеназа (ССАДГ, 1.2.2.16) является ключевым ферментом ГАМК-шунта. Однако в условиях продолжительного дефицита кислорода данный фермент перестает функционировать, что приводит к возникновению ряда метаболических реакций.

Для детоксикации янтарного полуальдегида и обеспечения функционирования растительной клетки существует альтернативный путь, включающий фермент  $\gamma$ -гидроксибутиратдегидрогеназу – фермент класса оксидоредуктаз (ГБДГ, КФ 1.1.1.61), катализирующий реакцию превращения  $\gamma$ -гидроксибутирата до сукцинилового полуальдегида, при этом  $\text{NAD}^+$  восстанавливается до НАДН.

У растений гамма-гидроксибутиратдегидрогеназа играет ключевую роль в преобразовании янтарного полуальдегида, полученного из ГАМК, до ГОМК в условиях абиотического стресса.

**Целью исследования** было изучить влияние засоления на ферментативную активность  $\gamma$ -гидроксibuтиратдегидрогеназы в листьях проростков кукурузы *in vivo*.

**Материал и методы исследования.** Основными объектами исследования были 14-дневные проростки кукурузы сорта Воронежская-76 (*Zea mays* L.), выращенные гидропонным способом в климатической камере "LabTech" (Корея) при десятичасовом световом дне. Интенсивность освещения составляла 25 Вт/м<sup>2</sup>, температура окружающей среды – 25°C.

В ходе эксперимента у растений вызывали солевой стресс путем инкубации в солевом растворе в течение 24 часов. Раствор для инкубации содержал 150 мМ хлорида натрия (NaCl) и был заменен водой на тот же период времени в контрольной группе. Корневая система у растений в контрольной и экспериментальной группах была удалена.

Исследование включало отбор проб до начала инкубации (0) и через 1, 3, 6, 12 и 24 часа после начала эксперимента.

Активность  $\gamma$ -гидроксibuтиратдегидрогеназы в исследуемых образцах определяли по скорости образования НАДН при длине волны 340нм с помощью спектрофотометра Evolution 260 Bio (Thermo Fisher Scientific, США) при 25°C. Среда спектрофотометрирования представляла собой раствор, содержащий 16 мМ гидроксibuтирата натрия (Sigma Aldrich, США), 1 мМ НАД<sup>+</sup>, 100 мМ Tris–HCl буфер (pH 9.0). Реакцию инициировали добавлением ферментного препарата. Контролем служила среда спектрофотометрирования без добавления препарата фермента.

За единицу активности фермента принимали количество фермента, преобразующего 1 мкмоль субстрата за 1 мин при оптимальном pH и температуре 25 °C.

Эксперимент проводили в 3-4-кратных биологических повторностях, аналитическое определение каждого образца проводили также три раза. Для статистического анализа полученных данных использовали программу STATISTICA 12.0.

Количественные параметры оценивали на соответствие нормальному распределению с использованием критерия Шапиро-Уилка. Графически результаты выражали как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего (SEM). Для анализа различий использовали критерий Стьюдента и однофакторный дисперсионный анализ. Различия, представленные в статье, являются статистически значимыми ( $p \leq 0,05$ ).

**Результаты исследования и их обсуждение.** В результате данного эксперимента было обнаружено, что ферментативная активность ГБДГ увеличивалась при инкубации проростков кукурузы в растворе хлорида натрия (рис. 1).

Результаты показали, что активность фермента увеличилась в три раза в первый час действия солевого стресса и оставалась выше контрольного значения, хотя в последующие часы она снижалась. Начиная с 12-го часа засоления активность ГБДГ возрастала вторично и достигла максимума на 24-м часу эксперимента. При этом показатель общей активности исследуемых ферментов был в 10 раз выше контрольного значения.

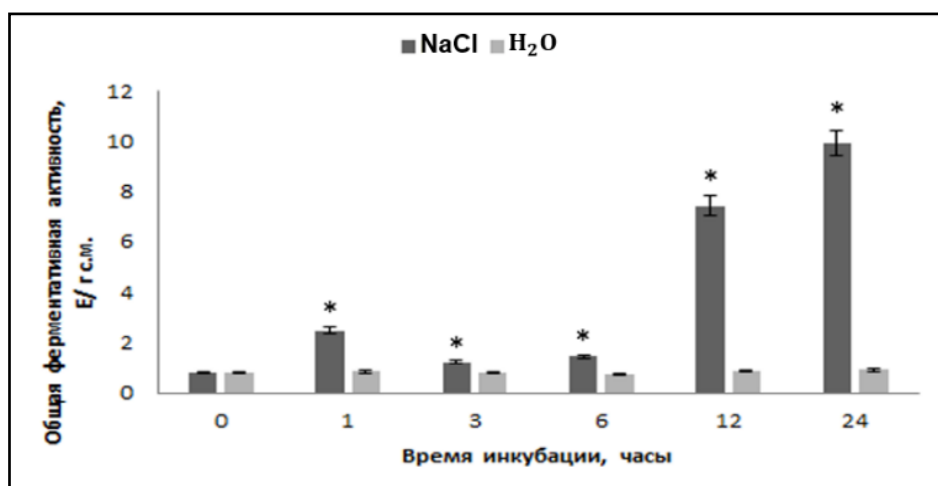


Рисунок 1 – Динамика общей ферментативной активности  $\gamma$ -гидроксибутиратдегидрогеназы в листьях кукурузы в условиях действия солевого стресса. NaCl – опытная группа, H<sub>2</sub>O – контрольная группа. Различия между значениями контрольной и опытной группы статистически достоверны ( $p \leq 0.05$ )

### Заключение

Таким образом, в результате эксперимента было показано, что в листьях кукурузы в условиях засоления наблюдается увеличение активности гамма-гидроксибутиратдегидрогеназы с первого часа инкубации проростков в растворе NaCl. Максимальная активность фермента наблюдалась через 24 часа инкубации и составляла 5,6 Е/г с.м. Такой механизм ответной реакции на солевой стресс, вероятно, связан с переключением потока янтарного полуальдегида для поддержания жизнедеятельности и адаптации к стрессору.

### Список литературы

1. Анохина Г. Б. и др. Влияние солевого стресса на функционирование 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса кукурузы (*Zea mays* L.) // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2019. – №. 3. – С. 26-33.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 351с.
3. Zar J. H. Biostatistical analysis. – Pearson Education India, 1999.
4. Breitzkreuz K. E. et al. A novel  $\gamma$ -hydroxybutyrate dehydrogenase: identification and expression of an Arabidopsis cDNA and potential role under oxygen deficiency //Journal of Biological Chemistry. – 2003. – Т. 278. – №. 42. – С. 41552-41556.
5. Fait A., Yellin A., Fromm H. GABA and GHB neurotransmitters in plants and animals // Communication in plants: Neuronal aspects of plant life. – 2006. – С. 171-185
6. Ji J. et al. Roles of  $\gamma$ -aminobutyric acid on salinity-responsive genes at transcriptomic level in poplar: Involving in abscisic acid and ethylene-signalling pathways //Planta. – 2018. – Т. 248. – С. 675-690.

7. Taxon E. S., Halbers L. P., Parsons S. M. Kinetics aspects of Gamma-hydroxybutyrate dehydrogenase //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. – 2020. – T. 1868. – №. 5. – C. 140376.

### References

1. Anokhina G. B. et al. The influence of salt stress on the functioning of the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex of corn (*Zea mays* L.) // Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2019. – No. 3. – pp. 26-33.
2. Lakin G. F. biometrics. - Publishing house "Higher School", 1990. - P. 352-352.
3. Zar J. H. Biostatistical analysis. – Pearson Education India, 1999.
4. Breitzkreuz K. E. et al. A novel  $\gamma$ -hydroxybutyrate dehydrogenase: identification and expression of an Arabidopsis cDNA and potential role under oxygen deficiency // Journal of Biological Chemistry. – 2003. – T. 278. – №. 42. – C. 41552-41556.
5. Fait A., Yellin A., Fromm H. GABA and GHB neurotransmitters in plants and animals //Communication in plants: Neuronal aspects of plant life. – 2006. – C. 171-185
6. Ji J. et al. Roles of  $\gamma$ -aminobutyric acid on salinity-responsive genes at transcriptomic level in poplar: Involving in abscisic acid and ethylene-signalling pathways //Planta. – 2018. – T. 248. – C. 675-690.
7. Taxon E. S., Halbers L. P., Parsons S. M. Kinetics aspects of Gamma-hydroxybutyrate dehydrogenase //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. – 2020. – T. 1868. – №. 5. – C. 140376.