

РОЛЬ ГЛИОКСИЛАТРЕДУКТАЗЫ В АДАПТАЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА КУКУРУЗЫ (*ZEAMAYS L.*) К ДЕЙСТВИЮ СОЛЕВОГО СТРЕССА И ГИПОКСИИ

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

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

Аннотация. Глиоксилатредуктаза (ГР, КФ 1.1.1.26) — энзим класса оксидоредуктаз, катализирующий обратимую реакцию восстановления глиоксилата до гликолата. Данный фермент играет важную роль в растительном метаболизме. Глиоксилатредуктаза участвует в процессе фотодыхания, в детоксикации альдегидов, а также в глиоксилатном цикле, который связан с бета-окислением и глюконеогенезом. Помимо участия в ассимиляции углерода, глиоксилатредуктаза играет ключевую роль в адаптации клеточного метаболизма к действию абиотического стресса. Понимание роли глиоксилатредуктазы в адаптации к стрессорам открывает перспективы для разработки новых стратегий повышения устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды. В связи с этим нами было изучено влияние засоления и гипоксии на ферментативную активность глиоксилатредуктазы в листьях проростков кукурузы. Было показано, что солевой стресс и гипоксия приводят к активации данной ферментной системы, что указывает на ключевую роль в адаптации растительной клетки к действию абиотического стресса.

Ключевые слова: глиоксилатредуктаза, гипоксия, солевой стресс, кукуруза, ферментативная активность

THE ROLE OF GLYOXYLATEREDUCTASE IN THE ADAPTATION OF MAIZE CELLULAR METABOLISM (*ZEA MAYS L.*) TO THE EFFECT OF SALT STRESS AND HYPOXIA

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

Voronezh State University, Voronezh, Russia

Abstract: Glyoxylatereductase (GR, EC 1.1.1.26) is an enzyme of the class of oxidoreductases that catalyzes the reversible reduction reaction of glyoxylate to glycolate. This enzyme plays an important role in plant metabolism. Glyoxylate reductase is involved in the process of photorespiration, in the detoxification of aldehydes, as well as in the glyoxylate cycle, which is associated with beta oxidation and gluconeogenesis. In addition to participating in carbon assimilation, glyoxylate reductase plays a key role in the adaptation of cellular metabolism to the action of abiotic stress. Understanding the role of glyoxylate reductase in adaptation to stressors opens up prospects for developing new strategies to increase plant resistance to adverse environmental conditions. In this regard, we studied the effect of salinity and hypoxia on the enzymatic activity of glyoxylate reductase in the leaves of corn seedlings. It has been shown that salt stress and hypoxia lead to the activation of this enzyme system, which indicates a key role in the adaptation of plant cells to the action of abiotic stress.

Keywords: glyoxylatereductase, hypoxia, salt stress, maize, enzymatic activity

Введение.

Изучение адаптации сельскохозяйственных культур к засолению и гипоксии имеет важное значение для выведения гибридов, устойчивым к данным факторам среды. Засоление и гипоксия оказывают негативное воздействие на растения, нарушая водный баланс в клетках, снижая фотосинтетическую активность и приводя к угнетению роста и снижению урожайности. Понимание механизмов, лежащих в основе устойчивости растений к этим стрессам, позволяет разрабатывать стратегии для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур в неблагоприятных условиях.

Растительная глиоксилатредуктаза (ГР, КФ 1.1.1.26) — это важный фермент, играющий ключевую роль в метаболизме растительных клеток, особенно в контексте адаптации к абиотическим стрессам. ГР катализирует обратимую НАДН-зависимую реакцию восстановления глиоксилата до гликолата [1]. Данный фермент участвует в нескольких важных клеточных процессах, связанных с метаболизмом углерода и азота [2]. В глиоксисомах ГР участвует в глиоксилатном цикле, который важен в процессе прорастания семян [3]. В процессе фотодыхания ГР обеспечивает детоксикацию глиоксилата, полученного из 2-фосфогликолата, способствуя снижению потери энергии и рециркуляции углерода [4].

Помимо своего участия в центральных метаболических путях, глиоксилатредуктаза играет важную адаптивную роль в условиях абиотического стресса. В условиях гипоксии энергетический метаболизм переключается на анаэробные пути, что приводит к накоплению токсичных альдегидов и снижению АТФ [5]. Солевой стресс также вызывает серьезные нарушения в метаболизме растений, приводя к ионному дисбалансу, осмотическому стрессу и окислительному повреждению [6]. При длительном воздействии абиотических стрессовых факторов в клетке происходит накопление сукцинилового полуальдегида, который также может быть утилизирован с помощью ГР [7].

Таким образом, глиоксилатредуктаза является перспективным объектом изучения для выведения гибридов, устойчивых к действию различных абиотических факторов. Дальнейшие исследования, направленные на изучение биохимических и молекулярных механизмов регуляции активности ГР в условиях стресса, позволят лучше понять адаптивные стратегии кукурузы и разработать новые подходы для повышения ее устойчивости к неблагоприятным условиям окружающей среды.

Цель исследования. Целью исследования было изучить влияние солевого стресса и дефицита кислорода на ферментативную активность глиоксилатредуктазы в листьях проростков кукурузы *in vivo*.

Материалы и методы исследования.

Для постановки эксперимента в качестве основного объекта исследования были использованы листья 10-дневных проростков кукурузы (*Zea mays* L.) сорта «Воронежская 76». Растения выращивали гидропонным методом при интенсивности освещения 25 Дж/(м² с), температуре 20°C и 10-часовом световом дне.

Солевой стресс индуцировали путем помещения растений опытной группы с предварительно удаленной корневой системой в 150 мМ водный раствор хлорида натрия на 24 часа. В качестве контроля использовали проростки, помещенные в воду. Отбор образцов осуществлялся по следующей схеме: до начала эксперимента, спустя 1 час, 3 часа, 6 часов, 12 часов и 24 после начала инкубации в солевом растворе.

Для создания экспериментальных гипоксических условий растения помещались в вакуум-эксикатор. Перед началом эксперимента растения были выдержаны в темноте в течение 24 часов. После этого в эксикатор с растениями опытной группы в течение суток подавали азот со скоростью 18 см³/сек из баллона 10150У (ГОСТ 94973, Россия, УЗГПО). Согласно сертификату соответствия, содержание кислорода в баллоне с азотом не превышало 0,5%. Контрольная группа растений находилась в нормальных аэробных условиях, с постоянным доступом кислорода из воздуха. На протяжении всего эксперимента температура поддерживалась на уровне 25°C. Первоначальные образцы для анализа были

взяты до начала воздействия стрессовых факторов, затем отбор проб проводился спустя 1 час, 3 часа, 6 часов и 24 часа от начала эксперимента.

Для выделения глиоксилатредуктазы листья кукурузы гомогенизировали в среде, содержащей 100 мМ Tris–HCl буфер (pH 7.4), 0,3 мМ дитиотреитол (ДТТ), 3 мМ этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), 10 мМ хлорид калия (KCl) [8].

Активность глиоксилатредуктазы определяли спектрофотометрически при 25°C на спектрофотометре Evolution 260 Bio, измеряя скорость образования НАДН при длине волны 340 нм. Реакционная смесь содержала: 6 мМ гликолата натрия, 2 мМ НАД⁺, 100 мМ Tris–HCl буфер (pH 7.4). Реакцию инициировали добавлением ферментного препарата. В качестве контроля использовали реакционную смесь без добавления фермента [8].

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе исследования по влиянию солевого стресса на функционирование глиоксилатредуктазы было выяснено, что общая ферментативная активность фермента имеет положительную динамику, сохраняющуюся на всем протяжении моделирования засоления. На третий час инкубации в солевом растворе наблюдается увеличение активности почти в 1,5 раза в сравнении с контрольной группой растений, где общая ферментативная активность оставалась на почти неизменном уровне. На 24 час инкубации отмечены максимальные значения общей ферментативной активности ГР, которая составляла 3,04 Е/г с.м. (Рис. 1).

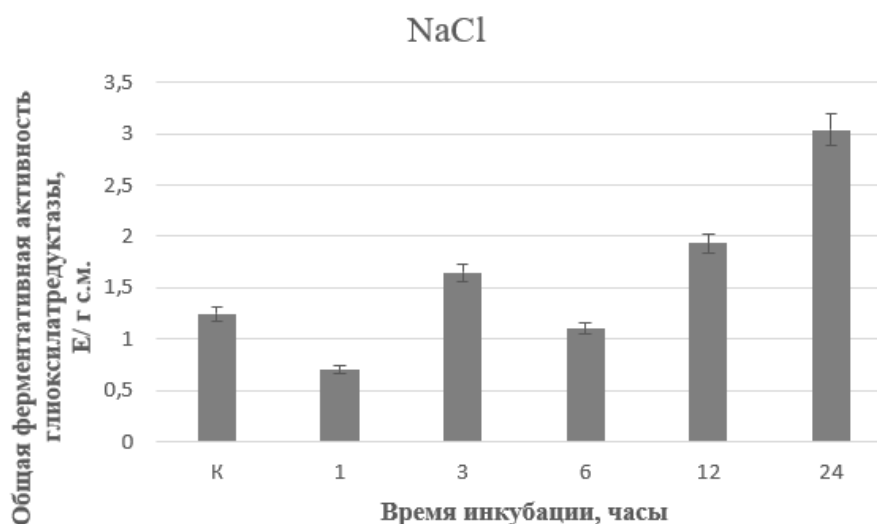


Рис. 1. Общая ферментативная активность глиоксилатредуктазы в условиях солевого стресса

Исследование динамики ферментативной активности глиоксилатредуктазы в условиях дефицита кислорода показало, что спустя час инкубации наблюдалось увеличение активности фермента. Активность глиоксилатредуктазы продолжала увеличиваться в течение первых 3 часов инкубации, достигая максимальных значений и составила 11,1 Е/г с.м. К 6 часам активность фермента в условиях гипоксии снижалась. Через 24 часа инкубации в условиях дефицита кислорода активность глиоксилатредуктазы снизилась. При этом активность фермента в контрольной группе к этому времени достигла максимального значения.

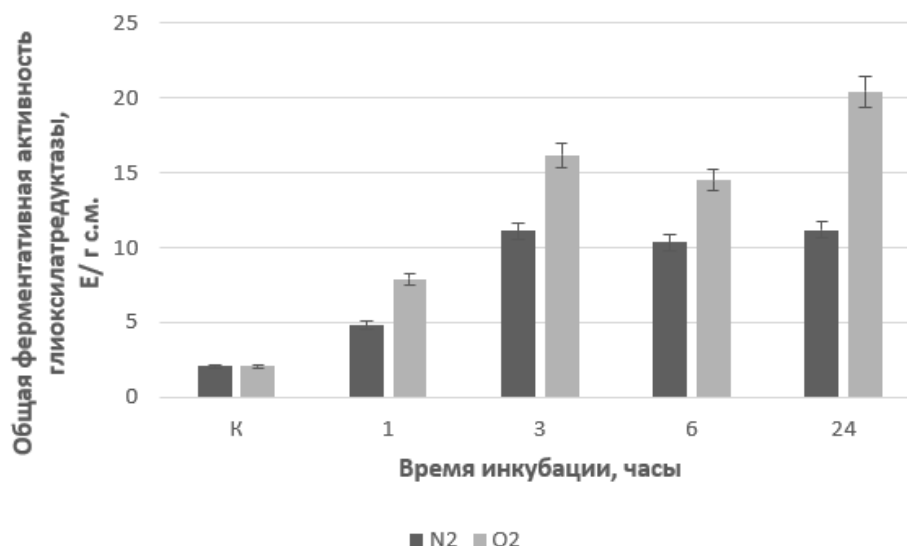


Рис. 2. Общая ферментативная активность глиоксилатредуктазы в условиях гипоксии

Закключение. Таким образом, в результате проведенного эксперимента было выяснено, что глиоксилатредуктаза участвует в адаптации метаболизма кукурузы к действию солевого стресса и гипоксии по-разному. В условиях солевого стресса активность фермента превышала контрольные значения и достигала максимума спустя сутки инкубации в растворе хлорида натрия. Вероятно, активация глиоксилатредуктазы направлена на поддержание окислительно-восстановительного баланса клетки, перестройку метаболических путей, а также синтез осмопротекторов таких как глицин-бетаин. В условиях гипоксии активность глиоксилатредуктазы увеличивается, но остается ниже контрольных значений. Повышение активности ГР в начале гипоксического стресса может указывать на начальную адаптационную реакцию, направленную на поддержание редокс-баланса или детоксикацию продуктов, образующихся в условиях гипоксии. Снижение активности ГР в дальнейшем может быть результатом негативной обратной связи или переключения на другие метаболические пути.

Список литературы

1. Гатаулина М. О., Епринцев А. Т. Применение ионообменной хроматографии для очистки глиоксилатредуктазы из листьев кукурузы и исследование ее характеристик // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24. – №. 3. – p. 426-431.
2. Allan W. L. et al. Role of plant glyoxylate reductases during stress: a hypothesis // Biochemical Journal. – 2009. – V. 423. – №. 1. – p. 15-22.
3. Escher C. L., Widmer F. Lipid mobilization and gluconeogenesis in plants: do glyoxylate cycle enzyme activities constitute a real cycle? A hypothesis // Biological chemistry. – 1997. – V. 378. – №. 8. – p. 803-813.
4. Givan C. V., Kleczkowski L. A. The enzymic reduction of glyoxylate and hydroxypyruvate in leaves of higher plants // Plant Physiology. – 1992. – V. 100. – №. 2. – p. 552-556.

5. Zarei A. et al. Plant glyoxylate/succinic semialdehyde reductases: comparative biochemical properties, function during chilling stress, and subcellular localization //Frontiers in plant science. – 2017. – V. 8. – p. 1399.
6. Hasanuzzaman M. et al. Regulation of reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under salinity //International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – №. 17. – p. 9326.
7. Hoover G. J. et al. Characteristics of an Arabidopsis glyoxylate reductase: general biochemical properties and substrate specificity for the recombinant protein, and developmental expression and implications for glyoxylate and succinic semialdehyde metabolism in planta //Botany. – 2007. – V. 85. – №. 9. – p. 883-895.
8. Григорьева А. В. и др. Влияние солевого стресса на динамику активности растительной глиоксилатредуктазы //Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов. – 2022. – С. 75-78.

References

1. Gataullina M. O., Eprintsev A. T. Application of ion exchange chromatography for purification of glyoxylate reductase from corn leaves and investigation of its characteristics //Sorption and chromatographic processes. – 2024. – V. 24. – No. 3. – p. 426-431.
2. Allan W. L. et al. Role of plant glyoxylate reductases during stress: a hypothesis //Biochemical Journal. – 2009. – V. 423. – №. 1. – p. 15-22.
3. Escher C. L., Widmer F. Lipid mobilization and gluconeogenesis in plants: do glyoxylate cycle enzyme activities constitute a real cycle? Ahypothesis //Biologicalchemistry. – 1997. – V. 378. – №. 8. – p. 803-813.
4. Givan C. V., Kleczkowski L. A. The enzymic reduction of glyoxylate and hydroxypyruvate in leaves of higher plants //Plant Physiology. – 1992. – V. 100. – №. 2. – p. 552-556.
5. Zarei A. et al. Plant glyoxylate/succinic semialdehyde reductases: comparative biochemical properties, function during chilling stress, and subcellular localization //Frontiers in plant science. – 2017. – V. 8. – p. 1399.
6. Hasanuzzaman M. et al. Regulation of reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under salinity //International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – №. 17. – p. 9326.
7. Hoover G. J. et al. Characteristics of an Arabidopsis glyoxylate reductase: general biochemical properties and substrate specificity for the recombinant protein, and developmental expression and implications for glyoxylate and succinic semialdehyde metabolism in planta //Botany. – 2007. – V. 85. – №. 9. – p. 883-895.
8. Grigorieva A.V. and others. The effect of salt stress on the dynamics of plant glyoxylate reductase activity //Organization and regulation of physiological and biochemical processes. - 2022. – p. 75-78.