

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.192.2+577.346

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СРЕДНЕВОЛНОВОГО ДИАПАЗОНА НА СОДЕРЖАНИЕ И СПЕКТР ПОЛИАМИНОВ В ЛИСТЯХ И КОРНЯХ ДИКORAСТУЩИХ РАСТЕНИЙ

Н.Л. Радюкина¹, Ю.В. Иванов¹, С. Мапелли², Л.Е. Михеева³, Е.А. Карбышева^{3,*}¹Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева, РАН, Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, д. 35;²National Research Council, Institute of Agricultural Biology and Biotechnology, via Bassini 15, 20133 Milano, Italy;³Кафедра генетики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12

*e-mail: karbisheva@mail.ru

Настоящая работа является продолжением серии работ по изучению кратковременного действия ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона (12,5 кДж/м²) на растения. При этом особое внимание уделено быстрому ответу антиоксидантной системы (измерение через 24 ч после облучения). Свободные и конъюгированные формы полиаминов (ПА) путресцинового ряда (путресцин, спермин, спермидин) и кадаверина, как известно, являются частью антиоксидантной системы. В растениях *Thellungiella sal-suginea*, *Salvia officinalis* L., *Plantago major* L., *Geum urbanum* L., выращенных в водной культуре в условиях фитотрона определяли содержание свободных и конъюгированных форм ПА через 24 ч после действия ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона. Полученные данные подтверждают существующую гипотезу о наибольшей роли путресцина в защитном ответе растений на действие ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона. Повышение содержания этого ПА наблюдалось в листьях трёх из четырёх исследованных растений, и именно изменения в его содержании определяли суммарное повышение уровня свободных ПА. В уровне конъюгированных форм спермина, спермидина и кадаверина не удалось выявить общую тенденцию, и только для конъюгатов путресцина отмечено чёткое повышение. Проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что относительный вклад конкретных форм ПА в защитный ответ определяется прежде всего видовой принадлежностью исследованных растений. Вполне вероятно, что конъюгированные формы ПА могут служить резервом для быстрого восстановления необходимого уровня эндогенных свободных форм ПА.

Ключевые слова: дикорастущие растения, свободные полиамины, конъюгированные полиамины, излучение УФ-В, окислительный стресс, антиоксидантная система

Окислительный стресс, который развивается в растениях при действии как абиотических, так и биотических факторов, вызывает активацию антиоксидантной системы (АОС) [1]. Одними из важнейших компонентов этой системы являются полиамины (ПА) путресцинового ряда [2]. Такие ПА, как путресцин (Пут), спермидин (Спд), спермин (Спм) и кадаверин (Кад) — это низкомолекулярные органические соединения с высокой биологической активностью, различающиеся между собой только числом и положением в молекуле аминогрупп. Протекторная роль ПА основана на химических свойствах этих соединений как органических катионов [3–6]. В растениях присутствуют как свободные формы этих соединений, так и растворимые либо нерастворимые конъюгаты, которые образуются при взаимодействии свободных форм с кофейной и феруловой кислотами [7]. В растениях в норме концентрация всех форм ПА находится в диапазоне 10⁻⁹–10⁻⁵ М, но может увеличиваться на порядок при действии стрессовых факторов различной природы [8]. Вопрос о роли конъюгатов индивидуаль-

ных ПА остается дискуссионным, так как их определение проводится достаточно редко. В связи с этим целью данной работы было исследование изменения уровня всех форм ПА у растений при действии ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона. В качестве объектов исследований использованы дикорастущие растения трёх экофизиологических групп. Для оценки возможной зависимости вклада ПА в защитный ответ было изучено действие УФ-В-излучения на четырёх видах растений, относящихся к различным экофизиологическим группам.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований использовали следующие дикорастущие растения: гравилат городской *Geum urbanum* L. семейства *Rosacea* (далее — “гравилат”), теллунгиелла солонцовая *Thellungiella salsuginea* (Pallas) O.E.Schulz (экотип Shandong) семейства *Brassicaceae* (далее — “теллунгиелла”), шалфей лекарственный *Salvia officinalis* L.

семейства *Lamiaceae* (далее — “шалфей”), подорожник большой *Plantago major* L. семейства *Plantaginaceae* (далее — “подорожник”). Эти растения различаются по уровню устойчивости к действию абиотических факторов, в частности, к действию УФ-В-излучения [9]. Растения культивировали в камере фитотрона при 12-часовом световом периоде и мощности освещения 37,6 Вт/м² люминесцентными лампами Philips F36W/54. Температура воздуха составляла 23±1°C (день) и 16±1°C (ночь), относительная влажность воздуха — 55–70% [9].

При достижении растениями 6-недельного возраста (стадия 4–5 настоящих листьев) группу растений переносили в камеру с ультрафиолетовыми лампами Philips 40W/12RS и облучали в течение 10 мин, что соответствовало дозе ИУФ-Б 12,5 кДж/м². Мощность излучения определяли с помощью люксметра AvaSpec-2048 (Avantes, Голландия). После облучения растения перемещали в камеру фитотрона с нормальными условиями выращивания. Образцы листьев и корней контрольных и опытных растений отбирали через 24 ч после начала эксперимента, фиксировали жидким азотом и хранили при –70°C до проведения анализов.

Определение содержания свободных и конъюгированных ПА. Свободные ПА и их конъюгаты в растительной ткани определяли в виде их бензоильных производных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [7]. Представленные данные являются результатом трёх независимых экспериментов, т.е. три отдельно выращенные партии растений подвергали соответствующей обработке. Все биохимические определения проводились в необходимом количестве аналитических повторностей (не менее трёх).

Результаты и обсуждение

Одним из общепринятых маркёров развития окислительного стресса является повышение содержания малонового диальдегида (МДА). Как показали наши исследования, после воздействия УФ-В-излучения в клетках всех изученных растений его содержание повышается (таблица). Эти данные указывают, что действие ИУФ-В вызывает окислительный стресс у исследуемых растений. Ранее в наших работах [9] была продемонстрирована активность компонентов АОС у растений при действии засоления и облучения. В данной работе мы уделили внимание изменению содержания свободных и конъюгированных форм ПА путресцинового ряда и кадаверина как вероятных элементов АОС при действии облучения [7–9]. Для получения более полной картины участия различных форм ПА в защитном ответе определяли сумму растворимых и нерастворимых конъюгированных форм индивидуальных ПА.

На рисунке представлены результаты определения содержания свободных и суммы конъюгированных форм индивидуальных ПА в листьях и корнях контрольных и облучённых растений. Сум-

марное содержание Пут, Спд и Спм в листьях и корнях контрольных (необлучённых) растений находилось в пределах 1000–4000 нмоль/г сухой массы. Следует отметить более высокое содержание Пут в растениях шалфея и пониженное содержание Спм в растениях подорожника и листьях шалфея. Полученные результаты свидетельствуют о том, что однократное кратковременное воздействие УФ-В-излучения на растения в большинстве случаев приводит к изменениям в содержании свободных и конъюгированных форм отдельных ПА.

Таблица

Содержание малонового диальдегида (мкмоль/г сырого веса) в опытных растениях при действии ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона

Название растения	Контроль	УФ-В-излучение
Гравилат городской (<i>Geum urbanum</i>)	0,035±0,006	0,055±0,007
Подорожник большой (<i>Plantago major</i>)	0,002±0,001	0,016±0,002
Теллунгиелла солонцовая (<i>Thellungiella salsuginea</i>)	0,008±0,004	0,011±0,001
Шалфей лекарственный (<i>Salvia officinalis</i>)	0,005±0,002	0,008±0,001

В проведенных исследованиях мы наблюдали, что уровень свободного Пут наиболее наглядно связан с действием УФ-В-излучения, так как именно за счёт повышения уровня путресцина в листьях и корнях происходит увеличение всего пула свободных ПА. Детальный анализ полученных данных свидетельствует о различиях в распределении форм индивидуальных ПА в листьях и корнях изучавшихся растений разных видов.

Путресцин. В контрольных образцах тканей всех исследованных растений отмечено высокое содержание свободного Пут, а в тканях теллунгиеллы и шалфея также и высокое содержание его конъюгатов (рисунок, а). В необлучённых тканях гравилата и корнях подорожника конъюгаты Пут не обнаруживаются. После воздействия УФ-В-излучения в листьях и корнях шалфея происходило повышение содержания свободного Пут. Такая же тенденция наблюдалась в листьях теллунгиеллы. Только у подорожника и в корнях теллунгиеллы воздействие УФ-В-излучения либо не влияло на уровень Пут, либо приводило к его снижению. Содержание конъюгатов Пут, наоборот, увеличивалось и в корнях, и в листьях всех исследованных растений, за исключением листьев гравилата. Особо следует отметить, что конъюгаты Пут появляются у гравилата после облучения только в корнях.

Спермин. В контрольных образцах высокое содержание свободного Спм (рисунок, б) отмечено у теллунгиеллы и гравилата в корнях и листьях, у шалфея — в корнях. Конъюгаты Спм присутствовали в корнях и листьях всех исследованных рас-

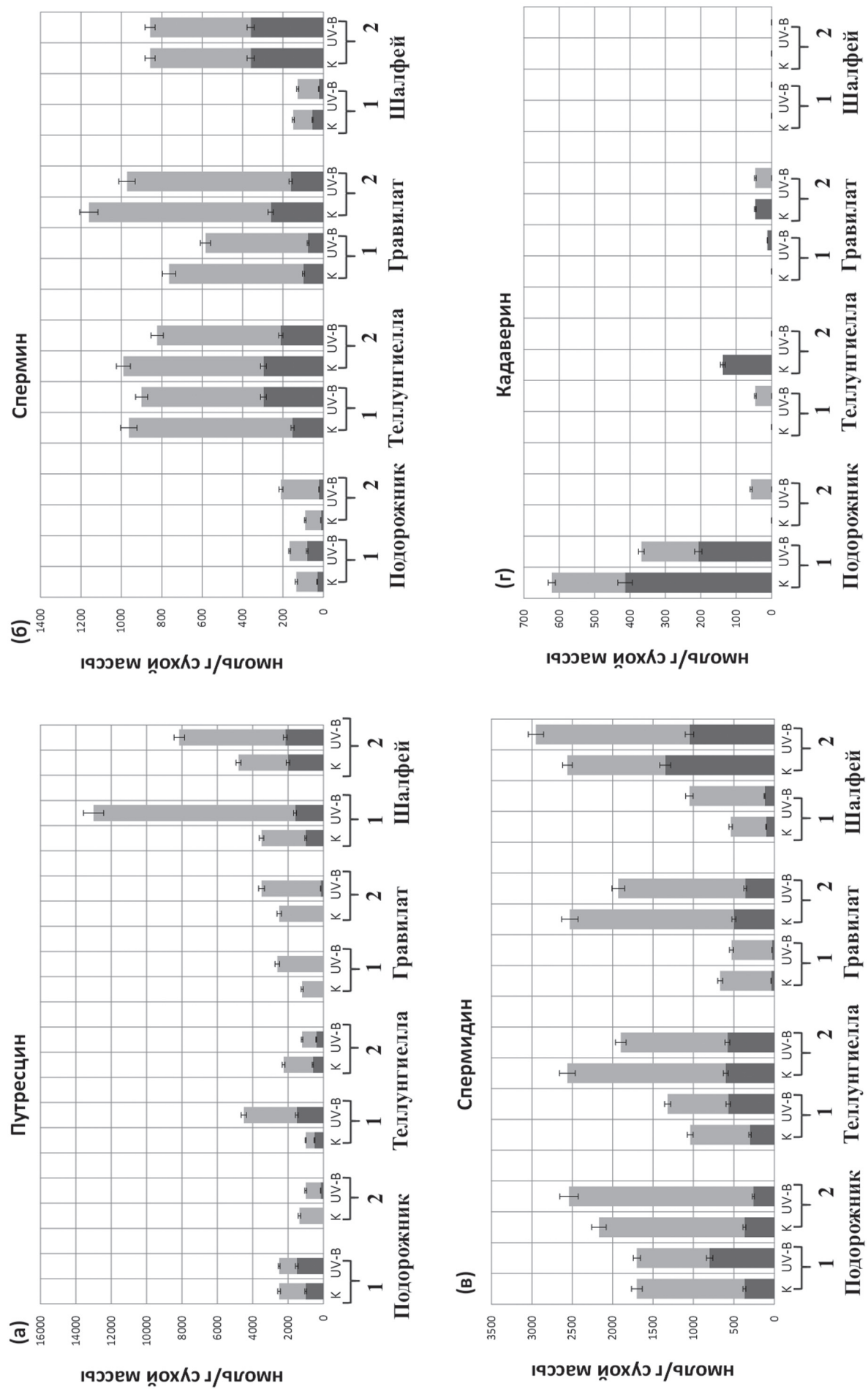


Рисунок. Содержание свободных (■) и конъюгированных (■) форм полиаминов в листьях (1) и корнях (2) исследуемых растений через 24 ч после 10-минутного воздействия ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона. К — группа конт йрольных растений, UV-B — группа, подвергшаяся воздействию излучения. (а) — путресцин, (б) — спермин, (в) — спермидин, (г) — кадаверин

тений при наибольшем содержании этой формы в корнях теллунгииеллы и шалфея. Под действием УФ-В-излучения содержание свободной и конъюгированной форм Спм имеет тенденцию к снижению в листьях и корнях трёх растений. Исключением являлся подорожник, в листьях и корнях которого увеличивались как доля конъюгатов, так и доля свободной формы.

Спермидин. Корни всех контрольных растений отличались достаточно высоким содержанием свободной и конъюгированной форм Спд, и при этом общее содержание спермидина было существенно выше в корнях, чем в листьях (рисунок, в). Под действием УФ-В-излучения в листьях и корнях подорожника, теллунгииеллы и шалфея происходило повышение содержания Спд в свободной и конъюгированной формах. У гравилата и в корнях, и в листьях содержание двух форм Спд снижалось после облучения.

Кадаверин. В контрольных образцах Кад был обнаружен в листьях подорожника (в свободной и связанной формах), а также в корнях теллунгииеллы и гравилата в форме конъюгатов (рисунок, г). Воздействие УФ-В-излучения индуцировало появление Кад в некоторых опытных образцах. Если под влиянием ультрафиолетового излучения средневолнового диапазона у подорожника в листьях уменьшалось содержание обеих форм, то в его корнях появлялась свободная форма Кад. Сходным образом, воздействие УФ-В-излучения приводило к появлению свободной формы Кад в листьях теллунгииеллы и связанной формы в листьях гравилата. В корнях гравилата влияние УФ-В-излучения вызывало переход конъюгированной формы в свободную форму. В растениях шалфея ни свободная, ни конъюгированная формы Кад не были обнаружены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miura K., Tada Y. Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid // *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5. Article 4, doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004>.
2. Kuznetsov V.V., Shevyakova N.I. Polyamines and plant adaptation to saline environment // *Desert Plants. Biology and Biotechnology* / Ed. K.B. Ramawat. Berlin-Heidelberg: Springer, 2010. P. 261–297.
3. Bouchereau A., Aziz A., Larher F., Martin-Tanguy J. Polyamines and environmental challenges: recent development // *Plant Sci.* 1999. Vol. 140. N 2. P. 103–125.
4. Kaur-Sawhney R., Tiburcio A.F., Altabella T., Galston A.W. Polyamines in plants: An overview // *J. Cell Mol. Biol.* 2003. Vol. 2. N 1. P. 1–12.
5. Korolkova D.V., Radyukina N.L., Soshinkova T.N., Mapelli S., Kuznetsov V.V. Effect of spermine treatment on the functioning of *Thellungiella salsuginea* // *Russ. J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 61. N 1. P. 69–76.
6. Minocha R., Majumbar R., Minocha S.C. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship // *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5. Article 175. P. 6–22.
7. Mapelli S., Brambilla I.M., Radyukina N.L., Ivanov Y.V., Kartashov A.V., Reggiani R., Kuznetsov V.V. Free and bound polyamines changes in different plants as a consequence of UV-B light irradiation // *Gen. Appl. Plant Physiol.* 2008. Vol. 34. N 1–2. P. 55–66.
8. Radyukina N.L., Shashukova A.V., Mapelli S., Shevyakova N.I., Kuznetsov V.V. Proline controls the level of polyamines in common sage plants under normal conditions and at UV-B irradiation // *Russ. J. Plant Physiol.* 2010. Vol. 57. N 3. P. 422–429.
9. Radyukina N.L., Kartashov A.V., Ivanov Y.V., Shevyakova N.I., Kuznetsov V.V. Functioning of defense systems in halophytes and glycophytes under progressing salinity // *Russ. J. Plant. Physiol.* 2007. Vol. 54. N 6. P. 806–815.
10. Son S., Lewis B.A. Free radical scavenging and anti-oxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship // *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50. N 3. P. 468–472.

11. Alcázar R., Altabella T., Marco F., Bortolotti C., Raymond M., Koncz C., Carrasco P., Tiburcio A.F. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance // *Planta*. 2010. Vol. 231. N 6. P. 1237–1249.

Поступила в редакцию

10.04.2017

Принята в печать

15.06.2017

PLANT PHYSIOLOGY

THE EFFECT OF MEDIUM WAVE ULTRAVIOLET RADIATION ON THE CONTENT AND SPECTRUM OF POLYAMINES IN LEAVES AND ROOTS OF WILD-GROWING PLANTS

N.L. Radyukina¹, Y.V. Ivanov¹, S. Mapelli², L.E. Mikheeva³, E.A. Karbysheva^{3,*}

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences,
Botanicheskaya ul. 354, 127276, Moscow, Russia;

²National Research Council, Institute of Agricultural Biology and Biotechnology,
via Bassini 15, 20133 Milano, Italy;

³Department of Genetics, School of Biology, Lomonosov Moscow State University,
Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia

*e-mail: karbisheva@mail.ru

This work is a continuation of a series of studies on the short-term effects of UV-B radiation (12.5 kJ/m²) on plants with particular attention paid to the rapid response of the antioxidant system (measurement 24 hrs after irradiation). Free and conjugated forms of putrescine polyamines (putrescine, spermine, spermidine) and cadaverine are known to be part of the antioxidant system. In the plants *Thellungiella salsuginea*, *Salvia officinalis* L., *Plantago major* L., and *Geum urbanum* L. grown in aquatic culture under phytotron conditions, the content of free and conjugated forms of polyamines was determined 24 hrs after the treatment with UV-B. The obtained data confirm the existing hypothesis about the major role of putrescine in the protective response of plants to UV-B irradiation. An increase in the content of this polyamine was observed in the leaves of three of the four plants studied. And it was the changes in its content that determined the total increase in the level of free polyamines. It was not possible to reveal a general trend in the level of conjugated forms of spermine, spermidine and cadaverine, and only for putrescine conjugates there was a clear increase. The data obtained allow to conclude that the relative contribution of specific forms of polyamines to the protective response is determined primarily by the species of the investigated plants. It is likely that conjugated forms of polyamines can serve as a reserve for rapid recovery of the required level of endogenous free forms of polyamines.

Keywords: wild-growing plants, free polyamines, conjugated polyamines, UV-B irradiation, oxidative stress, antioxidant system

Сведения об авторах

Радюкина Наталья Львовна — докт. биол. наук, ст. науч. сотр. Института физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН. Тел. 8-499-231-83-59; e-mail: natrad@yandex.ru

Иванов Юрий Валерьевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Института физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН. Тел. 8-499-231-83-59; ivanovinfo@mail.ru

Мапелли Серджио — науч. сотр. Института сельскохозяйственной биологии и биотехнологии Национального совета по научным исследованиям, Милан, Италия. Тел.: +39 0223699 430; e-mail: mapelli@ibba.cnr.it

Михеева Лидия Евгеньевна — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры генетики биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-939-11-79; email: lidamikheeva@yandex.ru

Карбышева Елена Алексеевна — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры генетики биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-939-11-79; email: karbisheva@mail.ru