

СИНТЕЗ И АНАЛИЗ ЭЛИСИТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ОЛИГОПЕПТИДОВ GmPEP890 И GmPEP914 НА РАСТИТЕЛЬНЫЕ ОРГАНИЗМЫ

Филиппова Г.Г.¹, Лущик А.Я.², Соколов Ю.А.², Юрин В.М.¹

¹*Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь*

²*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск,
Беларусь*

Устойчивость растений к стрессовым воздействиям различной природы реализуется благодаря наличию ряда сигнальных систем, обеспечивающих восприятие и передачу внеклеточного сигнала в геном клетки [1]. Эти системы работают по универсальному механизму, включающему рецепцию, умножение и передачу сигнала на промоторные участки генов, изменение уровня экспрессии тех или иных генов, модификацию спектра синтезируемых белков и функциональный ответ клетки.

Согласно современным представлениям, важными участниками сигнальных систем растений являются эндогенные пептидные элиситоры [2, 3]. Их синтез в ответ на атаку фитопатогенов или насекомых-вредителей обеспечивает усиление и увеличение количества активированных путей сигнальной трансдукции, что приводит к быстрому отклику – синтезу фитоалексинов, укреплению клеточной стенки (лигнификации), синтезу PR-белков, развитию реакции сверхчувствительности и др. [1, 3]. Очевидно, что эндогенные пептидные элиситоры служат пусковым механизмом для активации экспрессии ряда защитных генов и индукции реакций, приводящих к увеличению устойчивости растений к действию стрессовых факторов. Имеются данные, что экзогенная обработка растений элиситорами пептидной природы вызывает повышение уровня экспрессии гена цитохрома P₄₅₀, генов хитиназы и халконсинтазы, а также приводит к активации синтеза жасмоновой и салициловой кислот, этилена, летучих фитоалексинов и др. [2, 3, 4]. Участие пептидов в развитии защитных ответов растительной клетки дает возможность их использования в растениеводстве с целью повышения неспецифической индуцированной устойчивости растений к действию как биотических, так и абиотических стрессоров.

Пептидные элиситоры GmPEP890 и GmPEP914 были выделены из листьев сои [5]. При действии фитопатогенов они образуются из конститутивных белков *GmPROPEP890* и *GmPROPEP914*, оба элиситора состоят из 8 остатков аминокислот DLPRGGNY и DHPRGGNY соответ-

ственно. Показано, что добавление GmPer890 и GmPer914 в наномолярных концентрациях к суспензии клеток сои вызывает быстрое подщелачивание внешнего раствора – реакция, с которой связывают биологическую активность защитных пептидов [5]. Эти сведения позволяют предположить, что данные соединения проявляют элиситорные свойства, однако механизм их действия не исследован.

Были разработаны методики синтеза GmPer890 и GmPer914, получены препараты данных олигопептидов и исследовано их действие на проростки сои сортов Верас и Припять и гороха сорта Натальяевский. Для установления элиситорной активности олигопептидов проводили экзогенную обработку надземной части 2-недельных проростков водными растворами данных соединений в диапазоне концентраций 10^{-9} – 10^{-13} М.

Установлено, что синтетические пептиды GmPer890 и GmPer914 проявляют элиситорное действие в концентрациях 10^{-10} – 10^{-12} М. Через 24 и 48 часов после обработки растений данными препаратами происходит увеличение суммарного содержания растворимых фенольных соединений (ФС), уровня флавоноидов, гидроксикоричных кислот и величины антиоксидантной активности (АОА) в листьях и корнях проростков сои и гороха. Выявлено, что исследованные сорта сои по-разному откликаются на обработку пептидом GmPer890. У сорта Верас максимальный эффект наблюдается при концентрации пептида 10^{-10} М через 48 часов после обработки. В данном варианте опыта содержание ФС в листьях увеличивается на 25 % по сравнению с контролем, что приводит к росту показателя АОА. У сорта Припять максимальная реакция на обработку пептидом GmPer890 проявляется через 24 часа при концентрации 10^{-12} М, при этом содержания растворимых ФС в листьях повышается на 15–20 %, в корнях до 40 % по сравнению с контролем [6].

Пептид GmPer914 через 24 часа после обработки приводит к увеличению содержания растворимых ФС на 20–25 % по сравнению с контролем и незначительный рост показателя АОА в листьях проростков сои обоих сортов. Увеличение времени воздействия пептида до 48 часов вызывает снижение исследуемых параметров, что может быть связано с синтезом полимерных ФС, обладающих защитными свойствами. Полученные данные позволяют предположить, что экзогенная обработка растений синтетическими пептидами GmPer890 и GmPer914 в концентрациях 10^{-10} – 10^{-12} М оказывает элиситорное действие и приводит к запуску защитных механизмов, увеличивающих устойчивость растений к действию стрессоров. Для подтверждения данного предположения было исследовано влияние

данных пептидов на скорость окислительных процессов, а также морфометрические показатели проростков сои и гороха в условиях действия оксидативного стресса.

Выявлено, что пептидные элиситоры GmPep890 и GmPep914 в концентрации 10^{-12} М вызывают индукцию механизмов антиоксидантной защиты, в результате чего происходит снижение уровня первичных продуктов ПОЛ в растениях, подвергнутых оксидативному стрессу. Установлено, что в стрессовых условиях пептид GmPep914 приводит к увеличению активности пероксидазы, тогда как GmPep890 не оказывает существенного влияния на активность данного фермента.

Анализ морфометрических характеристик проростков, подвергнутых оксидативному стрессу, показал, что экзогенная обработка надземной части растений пептидом GmPep890 не оказывает достоверного защитного эффекта на проростки сои сорта Верас, однако приводят к увеличению устойчивости сои сорта Припять и гороха. Защитное действие пептида GmPep914 проявляется на всех исследованных растениях, но в разной степени. У сои сорта Верас защитный эффект выражен несколько больше, по сравнению с сортом Припять.

Полученные данные позволяют заключить, что синтезированные олигопептиды GmPep890 и GmPep914 в концентрациях 10^{-10} – 10^{-12} М оказывает элиситорное действие на проростки сои и гороха. Экзогенная обработка надземной части растений данными соединениями вызывает индукцию сигнальных систем, приводящих к увеличению устойчивости растений к стрессовым воздействиям.

Литература

1. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений / И.А. Тарчевский; [отв. ред. А.Н. Гречкин]. – М.: Наука, –2002. –294 с.
2. Yamaguchi Y., Huffaker A. Endogenous peptide elicitors in higher plants // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2011. – V. 14. – P. 351-357.
3. Albert M. Peptides as trigger of plant defence // *J of Experimental Botany*. – 2013. – V. 64. – P. 5269-5279.
4. Cowpea chloroplastic ATP synthase is the source of multiple plant defense elicitors during insect herbivory / E.A. Schmels et. al // *Plant Physiology*. – 2007. – V. 144. – P. 793-805.
5. GmPep914, an eight-amino acid peptide isolated from soybean leaves, activated defense-related genes / Yamaguchi Y. et al // *Plant Physiology*. – 2011. – V. 156. – P. 932-942.

6. Филиппова Г.Г., Варакса Т.С., Соколов Ю.А., Юрин В.М. Действие пептидного элиситора GmPer890 на физиолого-биохимические показатели проростков сои // Труды БГУ. –2015. –С. 75-81.

РАЗВИТИЕ СИМПТОМОВ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КЛЕТКАХ КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПОЛИАМИНОВ

Чичко А.А., Мацкевич В.С., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Ключевым триггером запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ) у высших растений является повышенная концентрация активных форм кислорода (АФК), генерация которых стимулируется в ответ на стрессовые воздействия различной природы [1]. Ключевыми стресс-протекторными агентами растений являются полиамины - низкомолекулярные водорастворимые алифатические соединения, содержащих две или более первичных аминогрупп ($\text{NH}_2\text{-R-NH}_2$). Повышение уровня полиаминов в тканях высших растений происходит в ответ на практически любые абиотические стрессовые воздействия. Наибольшее распространение и физиологическое значение в растениях имеют путресцин (диамин), спермидин (триамин) и спермин (тетрамин) [2]. Механизм влияния полиаминов на растения остается малоизученным. Некоторые литературные данные указывают на ослабление признаков окислительного стресса при сверхэкспрессии ферментов биосинтеза полиаминов. В то же время, полиамины выступают субстратом для полиамин-оксидазы, продуцирующей АФК в апопласте. Вероятнее всего, про- или антиоксидантная направленность влияния полиаминов зависит от конкретных физиологических условий и особенностей стрессовых воздействий. В этой связи, представлялось актуальным протестировать влияние экзогенных полиаминов на уровень ЗКГ в тканях модельной растительной системы. Целью настоящей работы являлось выявление особенностей развития морфологических симптомов ЗКГ в клетках корня высших растений при воздействии основных природных полиаминов (спермина, спермидина, путресцина).

В экспериментах использовались корни 5-7-дневных проростков арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* L. Heynh экотипа WS-0 (Wassilewskija). Культура целых растений выращивалась вертикально из семян на чашках Петри (100% среды Мурашиге и Скуга, 0,25% фитогеля, 1% сахарозы, pH