

ЭКОЛОГИЯ, БИОЛОГИЯ, МЕДИЦИНА

УДК 581. 12/13

С.А. Войцековская

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ГИПО- И АНОКСИИ

Томский государственный педагогический университет

В процессе жизнедеятельности растения подвергаются различного рода неблагоприятным воздействиям. Растения обладают способностью противостоять действию неблагоприятных факторов среды (стрессоров). Ответная реакция организма на действие стрессоров включает формирование как неспецифических, так и специфических механизмов устойчивости. К неспецифическим процессам, происходящим в клетках растений при действии стрессоров, относится торможение биосинтеза белков, характерного для нормальных условий и активация синтеза защитных полипептидов, которые принято называть стрессовыми. Такие изменения в белковом обмене описаны у растений при различных экологических стрессах: водном, солевом, температурном, раневом, при действии тяжелых металлов, кислородной недостаточности. Недостаток кислорода, возникающий при временном или постоянном переувлажнении, образовании ледяной корки, создании асфальтовых покрытий в городах и т.д., вызывает изменения в белковом обмене. Это проявляется в торможении биосинтеза белка, усилении его распада и активации синтеза отдельных полипептидов, называемых анаэробными. Они участвуют в компенсаторных перестройках обмена веществ, направленных на адаптацию к условиям кислородной недостаточности. Некоторые анаэробные полипептиды были идентифицированы как ферменты гликолиза, конечных этапов спиртового и молочнокислого брожения, а также дикарбоновой части цикла Кребса [1]. Ранее нами было установлено, что в бескислородной среде осуществляется синтез некоторых ядерных белков хроматина, выполняющих, по-видимому, регуляторную роль [2]. Поэтому целью настоящей работы, предпринятой как продолжение указанных исследований, являлось изучение влияния гипо- и аноксии (недостатка и полного отсутствия кислорода) на содержание белка в проростках пшеницы и риса, различающихся по устойчивости к дефициту кислорода. Для выявления возможности синтеза белков при аноксии использовали ингибиторы белкового синтеза актиномицин Д (Акт. Д) и циклогексимид (ЦГ).

Гипоксические условия достигались помещением растений в барокамеры с пониженным парциальным давлением кислорода (2 кПа). Условия аноксии создавались путем замещения воздуха в специальных сосудах газообразным азотом. Для исключения фотосинтеза растения находились в темноте. Проростки пшеницы выдерживали в анаэробной среде 1 и 3 сут, а риса 1, 3 и 7 сут, согласно их разной устойчивости к дефициту кислорода. Контрольные проростки находились такое же количество времени при нормальной аэрации и атмосферном давлении в темноте. В экспериментах с ингибиторами синтеза белка проводили 3-часовую предобработку контрольных и опытных вариантов растворами Акт. Д (80 мг/л) и ЦГ (10 мг/л). В качестве контрольных служили растения, прединкубированные 3 ч в дистиллированной воде, а затем помещенные в нормально аэрируемые или анаэробные условия. Количественное определение белка в растениях осуществляли по методу Лоури [3].

Условия 1-суточной гипоксии уменьшали содержание белка в проростках пшеницы до 82 % от контрольного варианта (табл.). При 3-суточном анаэробии в проростках пшеницы количество белка составляло 51 % от контроля. У риса кратковременное гипоксическое воздействие (1 сут) не сказывалось на концентрации белка. При более длительном действии неблагоприятного фактора (анаэробии, 3 сут) содержание белка уменьшалось до 81 % от контроля.

Аноксическое воздействие приводило к более сильным сдвигам в содержании белка у обоих растений. Так, уже после 1-суточной аноксии в проростках пшеницы содержание белка падало по сравнению с контролем при аэрации до 69 %. После 3-суточного действия неблагоприятного фактора было обнаружено сильное (до 32 % от контроля при 3-суточной аэрации) понижение содержания белка у пшеницы, в то время как в проростках риса при таком воздействии его количество составляло 67 % от контрольного. И лишь после 7 сут аноксических условий наблюдалось падение количества белка до 30 % по сравнению с контролем при аэрации.

Таким образом, по мере увеличения срока и силы анаэробного воздействия в проростках пше-

ницы и риса понижалось содержание белка, что раньше проявлялось у неустойчивого растения. Подобные изменения в белковом обмене могут быть обусловлены уменьшением скорости синтеза белка или усилением его распада при анаэробно-биозе. Торможение синтеза белка при гипоксии и аноксии показано для многих объектов. У устойчивых растений этот процесс идет медленнее, чем у неустойчивых. Считают, что причиной ингибирования синтеза белка может быть диссоциация полисом на отдельные рибосомы в ходе анаэробного воздействия и задержка сборки полисом. В зависимости от степени приспособленности растений были обнаружены различия и на этом этапе. Известно, что в корнях кукурузы в условиях анаэробно-биоза происходит диссоциация полисом [4], а в эмбрионах риса уровень полисом может восстанавливаться уже во время аноксии [5].

Второе предположение, связанное с усилением распада белка и, как следствие, понижением его содержания, также показано в условиях гипоксии. У более устойчивых к недостатку кислорода растений наблюдали торможение интенсивности распада белка, связанное с ингибированием у них протеиназ. Ингибиторами протеиназ могут быть полиамины, накапливающиеся в растениях в неблагоприятных условиях среды. Интересно, что у устойчивых к гипоксии растений, в том числе у риса, обнаружено более интенсивное накопление полиаминов, чем у пшеницы [6].

Наряду с торможением характерного для нормальных условий процесса биосинтеза белка в условиях анаэробно-биоза осуществляется образование анаэробных полипептидов [1, 2]. Для выяснения возможности синтетических процессов в проростках пшеницы и риса был проведен ингибиторный анализ в различных условиях газового режима (аэрация, аноксия).

В работе применили Акт. Д, тормозящий транскрипцию на матрице ДНК, и ЦГ, подавляющий трансляцию на 80S рибосомах. Действие ингибиторов в условиях аэрации у обоих растений сказывалось на содержании общего растворимого белка незначительно. При 1-суточной аноксии после выдерживания на воде количество белка в проростках пшеницы составляло 69 % от контроля при аэрации (табл.). Под влиянием Акт. Д в тех же условиях оно снижалось до 44 %, а при действии ЦГ – до 50 %. После 3-суточного анаэробно-биоза в проростках пшеницы было обнаружено сильное (до 32 % от контроля) понижение содержания

Влияние ингибиторов белкового синтеза актиномицина Д (Акт. Д) и циклогексимида (ЦГ) на содержание белка в проростках пшеницы и риса в различных условиях аэрации

Растит. мат-л	Условия опыта	К-во суток	Сод-е белка, %
Пшеница	аэрация	–	100
	гипоксия	1	82
	гипоксия	3	51
	аноксия	1	69
	аноксия + Акт. Д	1	44
	аноксия + ЦГ	1	50
	аноксия	3	32
	аноксия + Акт. Д	3	33
	аноксия + ЦГ	3	29
Рис	аэрация	–	100
	гипоксия	1	98
	гипоксия	3	81
	аноксия	3	67
	аноксия + Акт. Д	3	42
	аноксия + ЦГ	3	58
	аноксия	7	30
	аноксия + Акт. Д	7	25
	аноксия + ЦГ	7	23

белка, однако ингибиторный эффект не проявлялся, в то время как в проростках риса он был значительным. Содержание белка у него составляло 67 % от контроля, а в опытах с Акт. Д снижалось до 42 %, и с ЦГ – до 58 %. После 7 сут аноксии при падении количества белка до 30 %, по сравнению с аэробным контролем, ингибиторный эффект у риса не сохранялся. Эти результаты позволили предположить, что сохранение синтеза белка у опытных растений ограничивается более короткими сроками аноксии – 1 сут у пшеницы и 3 сут у риса. При более длительном действии неблагоприятного фактора (3 сут для пшеницы и 7 сут для риса), по-видимому, превалируют процессы торможения синтеза белка и усиления его распада. Надо заметить, что в анаэробных условиях Акт.Д оказывал больший эффект по сравнению с ЦГ на содержание белка в проростках обоих растений. Это согласуется с литературными данными о регуляции синтеза анаэробных полипептидов на транскрипционном уровне [1].

Таким образом, в условиях кислородной недостаточности в проростках растений наблюдается уменьшение содержания белка, при этом сохраняется возможность синтетических процессов при кратких сроках анаэробного воздействия.

Литература

1. Ricard B., Couee I., Raymond P. et al. // Plant Physiol. Biochem. 1994. V. 32. № 1. P. 1–5.
2. Войцековская С.А., Чиркова Т.В. // Вестн. СПбГУ. 1992. Вып. 3. № 17. С. 73–75.
3. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265–275.
4. Bailey-Serres J., Freeling M. // Plant Physiol. 1990. V. 94. P. 1237–1239.
5. Aspart L., Got A., Delseny M. et al. // Plant Physiol. 1983. V. 72. P. 115–118.
6. Reggiani R., Bertani A. // J. Plant Physiol. 1989. V. 135. № 3. P. 375–378.