

## Роль Проллина В Резистентности Растений К Стрессорам

М.Г. Мамедова

Институт молекулярной биологии и биотехнологии НАНА, пр. Матбуат, 2А, Баку AZ1073, Азербайджан; E-mail: gamira2010@mail.ru

**Рассмотрены такие аспекты роли пролина в резистентности растений к действию абиотических стрессоров как способность противодействовать накоплению в клетках активных форм кислорода (АФК), осмопротекторная роль защиты макромолекул и поддержания гомеостаза растительного организма.**

**Ключевые слова:** Стрессоры, абиотические факторы, пролин, антиоксиданты, адаптация

Абиотические факторы являются не только определяющими в своем влиянии на границы распространения растений на планете, но и важнейшим условием культивирования растений, используемых человечеством для поддержания своего существования. Действие абиотических стрессоров вызывает снижение продуктивности культурных и уменьшение биоразнообразия дикорастущих растений. Исследование клеточных и молекулярных механизмов, позволяющих растениям адаптироваться к действию неблагоприятных факторов внешней среды, является одной из фундаментальных проблем современной биологии. Формирование адаптационного ответа растительного организма на действие абиотических стрессоров происходит в результате множественных метаболических изменений (Kant et al., 2006; Krishnan et al., 2008). Многообразие и сложность метаболических путей, ответственных за адаптацию растений приводит к выводу, что их регуляция является координированной.

Поддержание оптимального водного статуса и интактной структуры биополимеров является одним из необходимых условий выживания для растений при стрессе. На клеточном уровне метаболизм растений изменяется таким образом, чтобы предотвратить негативные последствия повреждающего действия стресс-факторов (Munns et al., 2009). Это достигается за счет реализации двух существующих одновременно (или последовательно) путей адаптации живых организмов к экстремальным факторам среды 1) индукции синтеза отсутствующих ранее макромолекул с новыми свойствами, обеспечивающих "нормальное" протекание клеточного метаболизма при стрессе и 2) оптимизации внутриклеточной среды функционирования ферментных систем за счет аккумуляции низкомолекулярных органических соединений, обладающих протекторными и (или) осморегуляторными свойствами (Bouchereau et al., 1999).

Оба пути адаптации направлены на решение одних и тех же задач - на обеспечение организма энергией, восстановителями, предшественниками нуклеиновых кислот и белков, а также на поддержание функционирования клеточных регуляторных систем в условиях стресса (Gechev et al., 2006).

Эти задачи решаются в ходе реализации адаптационного процесса, который условно может быть разбит на две основные стадии: стресс-реакцию и специализированную адаптацию (Kuznetsov et al., 2007). В первой стадии имеет место мобилизация или формирование защитных систем, обеспечивающих кратковременное выживание организма в условиях повреждающего действия стрессора. На второй стадии происходит формирование специализированных адаптационных механизмов, ответственных за протекание онтогенеза в условиях длительного действия стрессорного фактора (Munns et al., 2009). Выживание растений в условиях стресса зависит от функционирования различных механизмов: одни из них определяют устойчивость растений при действии повреждающего фактора, тогда как другие обеспечивают репарацию повреждений на этапе восстановления, когда повреждающий фактор уже не действует. Можно было думать, что устойчивость к засолению различных сортов пшеницы определяется независимой "работой" механизмов резистентности и репарации.

В процессе эволюции кислород стал необходимым компонентом окружающей среды и одним из условий существования аэробных организмов. При этом образование активных форм кислорода (АФК) явилось негативным следствием жизни организма в аэробной среде. В дальнейшем у растений происходило формирование и развитие сложных многоступенчатых защитных реакций, контролируемых уровнем АФК. Действие на растительный организм любого стрессорного фактора, как абиотического,

так и биотического, провоцирует сверхпродукцию АФК и нарушает равновесие между их уровнем и активностью антиоксидантной защитной системы (Gechevet et al., 2006; Mittler et al., 2002). Достижение нового равновесного состояния в изменившихся условиях представляет собой интегральный процесс, включающий множество метаболических путей, регуляция которых может осуществляться на транскрипционном, посттранскрипционном, трансляционном и посттрансляционном уровнях. Однако механизмы взаиморегуляции между компонентами антиоксидантной системы на сегодняшний день практически не известны.

Накопление в растительных клетках избыточного количества активных форм кислорода (АФК) весьма возможно носит универсальный характер, поскольку индуцируемый ими окислительный стресс является одним из ранних повреждающих факторов стрессовых воздействий на растения (Krishnan et al., 2008). Показано, что АФК повреждают мембраны; окисляют аминокислотные остатки в белках (тирозина, триптофана, фенилаланина, метионина, цистеина), что приводит к их инактивации; повреждают ДНК и другие важнейшие компоненты клетки (Mittler et al., 2002). При усилении в стрессовых условиях одноэлектронного восстановления кислорода при фотосинтезе в хлоропластах и транспорта электронов при дыхании в митохондриях, прежде всего, образуется синглетный кислород ( $O_2$ ), супероксид-радикал ( $O_2^\bullet$ ), затем продукт его дисмутации –  $H_2O_2$  и, наконец, самый токсичный гидроксильный радикал ( $OH^\bullet$ ).

В последнее время продукция АФК в растительных клетках при стрессах стала рассматриваться не только как повреждающий фактор (Gong et al., 2005), но и как первичный сигнал для включения экспрессии генов, участвующих в стресс-адаптации (Радюкина и др., 2011; Foyer et al., 2009). Супероксид-радикал, перекись водорода, гидроксил-радикал являются частью сложного и разветвленного процесса передачи стресс-сигналов. Они могут инициировать не только биосинтез ферментов-антиоксидантов, но и индукцию синтеза пролина через МАПК-сигнальный каскад подобно абсцизовой кислоте. В клетках растений и бактериях этот сигнальный каскад приводит к запуску осморегулирующего механизма.

Известно, что обезвреживание АФК у растений в стрессовых условиях эффективно обеспечивается многоступенчатой системой защиты, в которой участвуют антиоксидантные ферменты, среди которых важнейшими являются супероксиддисмутазы (Cu/Zn-СОД, Fe-СОД,

Mn-СОД) (Huseynova et al., 2014; Huseynova et al., 2015). Однако при окислительном стрессе антиоксидантные ферменты могут инактивироваться АФК и для восстановления их синтеза требуется определенное время. В этом случае, на первый план выходят низкомолекулярные метаболиты-антиоксиданты (Mittler et al., 2002).

К низкомолекулярным соединениям с антиоксидантными свойствами, участвующими в “тушении” оксирадикалов, относят ряд нетоксичных или, как их часто называют, совместимых метаболитов, накапливающихся в растениях при действии абиотических стрессов - сорбит, мио-инозит, пролин (Alia et al., 1997), манит (Shen et al., 1997), сахара (Синькевич и др., 2009). Среди них пролин занимает особое место, поскольку его аккумуляция возникает в растительных клетках при действии практически любых стрессовых факторов: низкая температура (Кузнецов и др., 1999), засуха (Atkin et al., 2009), тяжелые металлы (Холодова и др., 2005), ультрафиолетовая радиация (Радюкина и др., 2011). В течение длительного времени физиология и биохимия пролина в работах рассматривалась в основном в связи с его осморегуляторной ролью. В настоящее время установлено, что стресс-индуцированное накопление пролина в растительных клетках обладает мультифункциональным действием на клеточный метаболизм, помогая растениям адаптироваться к неблагоприятным условиям, защищая от инактивации белки, ДНК, ряд ферментов и другие важнейшие клеточные компоненты (Кузнецов и др., 2006).

Одним из химических свойств пролина, входящих в современную концепцию о противодействии накоплению в клетках АФК, значительно опережающих повреждающее действие многих абиотических факторов, является его способность “тушить” синглетный кислород и гидроксил радикал (Alia et al., 1997; Matysik et al., 2002). Среди совместимых метаболитов, аккумулирующихся в растениях при стрессах, только для пролина показан эффект «тушения» синглетного кислорода, образующегося в первые часы действия стрессора (Alia et al., 1997). В работе Гонга (Gong et al., 2005) на основании снижения в клетках продукции малонового диальдегида (МДА) – индикатора перекисного окисления липидов, также была показана антиоксидантная роль пролина в условиях NaCl-индуцированного окислительного стресса.

Вместе с тем, до сих пор отсутствуют систематические исследования проявления антиоксидантных свойств пролина и роли пролина в поддержании редокс-гомеостаза клеток при накоплении АФК у растений-галофитов, адапти-

рованным к стрессам и аккумулирующих пролин в высоких концентрациях (Kant et al., 2006). Также регуляция экспрессии генов биосинтеза и деградации пролина (*P5CS1* и *PDH*) в связи с проявлением его антиоксидантной роли малоизучена.

В настоящее время хорошо известны данные, демонстрирующие осмопротекторные свойства пролина и его способность стабилизировать структуру белков (Yang et al., 2009) и регулировать pH цитоплазмы, снижать содержание АФК, а также регулировать соотношение НАД/НАД-Н (Krishnan et al., 2008; Lehmann et al., 2010; Verslues et al., 2010). Однако молекулярные механизмы пролин-опосредованной защиты клеток растений остаются не выясненными. Антиоксидантное действие пролина также требует серьезных дополнительных исследований. Кроме того, практически не изученным остается вопрос о том, что происходит с ферментами антиоксидантной защиты и низкомолекулярными компонентами при повышении содержания пролина в растениях. В последние годы появляются сведения о том, что стресс-зависимое изменение внутриклеточного содержания пролина может участвовать в регуляции активностей антиоксидантных ферментов (Радюкина и др., 2008; Радюкина и др., 2011; Ozturk et al., 2002).

В настоящее время пролин рассматривается и как химический шаперон, способный защищать макромолекулы, сохраняя их нативную структуру и биологическую активность (Verslues et al., 2010). Развитие представлений о химических шаперонах имеет важное практическое значение для понимания адаптационных процессов. Значительное увеличение концентрации пролина при засолении, засухе, УФ-ом облучении, действии тяжелых металлов и других абиотических факторов считается универсальной реакцией растений на стресс (Alia et al., 1997). В клетках растений, находящихся в стрессовых условиях, пролин составляет около 5% от всего пула свободных аминокислот (Lehmann et al., 2010). На данный момент в литературе преобладает гипотеза о полифункциональных биологических свойствах пролина в растениях в условиях стресса. Еще 20 лет назад в работах Alia с соавт (Alia et al., 1997) было исследована защитная роль пролина в тилакоидах растений при перекисном окислении липидов мембран, вызванном солевым стрессом и светом высокой интенсивности. В результате проведенных экспериментов было показано, что *in vitro* в присутствии 1 М пролина снижалось ПОЛ мембран тилакоидов. Также было показано, что пролин уменьшал образование синг-

летного кислорода, но не влиял на генерацию супероксид-радикала.

В общем виде устойчивость растений может быть идентифицирована как способность растительного организма сохранять гомеостаз на стрессовом фоне в течение различного времени путем использования изначально генетически детерминированных механизмов, их амплификации в различной степени на отдельных стадиях онтогенеза, а также шунтируемых биохимических последовательностей или их каскадов, в зависимости от энергетической составляющей организма, в процессе адаптации и пролонгирования стрессового воздействия во времени (Карагезов и др., 2008)

## ЛИТЕРАТУРА

- Карагезов Т.Г., Ибрагимова У.Ф., Мамедова М.Г.** (2008) Стрессорная реакция листьев и корней различных генотипов пшеницы при внезапном и постепенном засолении. *Известия НАН Азербайджана (биологические науки)*, **63(5-6):**14-21.
- Кузнецов В.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И.** (2006) Полиамины и стресс: биологическая роль, метаболизм и регуляция. *Физиол. растений*, **53:** 658-683.
- Кузнецов В.В., Шевякова Н.И.** (1999) Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция. *Физиология растений*, **46:** 321-336.
- Синькевич М.С., Дерябин А.Н., Трунова Т.И.** (2009) Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом. *Физиология растений*, **56:**186-193.
- Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Шевякова Н.И., Кузнецов В.В.** (2008) Участие пролина в антиоксидантной защитной системе шалфея при действии NaCl и параквата. *Физиология растений*, **55:** 721-730.
- Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Макарова С.С., Кузнецов В.В.** (2011) Экзогенный пролин модифицирует экспрессию генов при UV-B облучении. *Физиология растений*, **58:** 49-57.
- Холодова В.П., Волков К.С., Кузнецов В.В.** (2005) Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной травки и возможность их использования в целях фиторемедиации. *Физиология растений*, **52:** 848-858.
- Alia, Saradhi P.P., Mohanty P.** (1997) Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photodamage. *J. Photochem. Photobiol.*, **38:** 253-257.
- Atkin O.K., Macherel D.** (2009) The crucial role

- of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. *Annals of Botany*, **103(4)**: 581-597.
- Bouchereau A., Aziz A., Larher F., Martin-Tanguy J.** (1999) Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.*, **140**: 103-125.
- Foyer C.H., Noctor G.** (2009) Regulation in photosynthetic organisms: acclimation, and practical implications. *Antioxidants & Redox Signalling*, **11**: 861-905.
- Gechev T.S., Van Breusegem F., Stone J.M., De-nev I., Laloi C.** (2006) Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *BioEssays*, **28**: 1091-1101.
- Gong Q., Li P., Ma S., Rupassara S.I., Bohnert H.J.** (2005) Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, **44**: 826-839.
- Huseynova I.M., Aliyeva D.R., Aliyev J.A.** (2014) Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought. *Plant Physiology and Biochemistry*, **81**: 54-60.
- Huseynova I.M., Aliyeva D.R., Mammadov A.Ch., Aliyev J.A.** (2015) Hydrogen peroxide generation and antioxidant enzyme activities in the leaves and roots of wheat cultivars subjected to long-term soil drought stress. *Photosynthesis Research*, **125(1)**: 279-289.
- Kant S., Bi Y.-M., Weretilnyk E., Barak S., Rothstein S.J.** (2006) The *Arabidopsis* halophytic relative *Thellungiella halophila* tolerates nitrogen limiting conditions by maintaining growth, nitrogen uptake, and assimilation. *Plant Physiol.*, **147**: 1168-1180.
- KaviKishor P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Sri Laxm P., Naidu K.R., Rao K.R.S.S., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N.** (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.*, **88**: 424-438.
- Krishnan N., Dickman M.B., Becker D.F.** (2008) Proline modulates the intracellular redox environment and protects mammalian cells against oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, **44**: 671-681.
- Kuznetsov V.I., Shevyakova N.I.** (2007) Polyamines and stress tolerance of plants. *Plant Stress*, **1**: 50-71.
- Lehmann S., Funck D., Szabados L., Rentsch D.** (2010) Proline metabolism and transport in plant development. *Amino Acids*, **39**: 949-962.
- Matysik J., Alia, Bhalu B., Mohanty P.** (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Curr. Sci.*, **82**: 525-532.
- Mittler R., Simon L., Lam E.** (2002) Pathogen-induced programmed cell death in tobacco. *J. of Cell Science*, **110**: 1333-1344.
- Munns R., Rawson H.M.** (2009) Effect of salinity on salt accumulation and reproductive development in the apical meristem of wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.*, **26**: 459.
- Ozturk L., Demir Y.** (2002) *In vivo* and *in vitro* protective role of proline. *Plant Growth Regul.*, **38**: 259-264.
- Shen B., Jensen R.C., Bohnert H.J.** (1997) Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiol.*, **115**: 527-532.
- Verbruggen N., Hermans C.** (2008) Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, **35**: 753-759.
- Verslues P.E., Sharma S.** (2010) Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. *The Arabidopsis Book, Am. Soc. Plant Biol.*, **8**: e0140; doi 10.1199/tab.0140
- Yang S.L., Lan S.S., Gong M.** (2009) Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *J. Plant Physiol.*, **166**: 1694-1699.

## Bitkilərin Stresorlara Rezistentliyində Prolinin Rolu

M.H.Məmmədova

AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiya İnstitutu

Bitkilərin abiotik stressə rezistentliyində hüceyrələrdə oksigenin aktiv formaların toplanmasının qarşısını alma qabiliyyəti, makromolekulların qorunmasında osmoprotektor və bitki orqanizmində homeostazın saxlanılmasında prolinin rolunun aspektləri nəzərdən keçirilmişdir.

**Açar sözlər:** Stressorlar, abiotik amillər, prolin, antioksidantlar, adaptasiya

## **The Role Of Proline In The Resistance Of Plants To Stressors**

**M.H. Mamedova**

*Institute of Molecular Biology and Biotechnology, ANAS*

Aspects of proline's role in the plant resistance to abiotic stressors such as the ability to counteract the accumulation of reactive oxygen species (ROS) in cells, the osmoprotective role in macromolecular protection and the maintenance of homeostasis of plant organisms have been examined.

**Key words:** *Stressors, abiotic factors, proline, antioxidants, adaptation*