

Влияние экзогенного мелатонина на активность ферментов углеводного обмена в растениях *Beta vulgaris* L.

Р.В. УСАЧЁВА, ст. научн. сотр., канд. биолог. наук (e-mail: rima.usa@yandex.ru)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова»

Т.В. СВИРИДОВА, канд. биолог. наук (e-mail: sviridovav@yandex.ru)

ФГБУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Введение

Сахароза — основная форма запасных питательных веществ в сахарной свёкле — подвержена влиянию ферментов углеводного обмена. На ферменты, в свою очередь, оказывает влияние экспрессия того или иного гена или, наоборот, ингибирование. В литературе присутствуют данные, которые демонстрируют участие гена фруктокиназы *MdFRK2* — ключевого фермента углеводного обмена — в индуцированном экзогенным мелатонином накоплении сахаров в растениях кукурузы (*Zea mays*) [1, 2], яблони (*Malus*) [3] и др. Растворимые молекулы сахара (сахароза, глюкоза [4] и фруктоза [5]) действуют в качестве сигнальных молекул, регулирующих экспрессию как различных генов, связанных с метаболизмом и защитой, так и метаболических процессов, контролирующих рост и развитие растений [4, 6]. В растительных клетках концентрация сахара в значительной степени регулируется метаболизмом сахара, который включает расщепление сахарозы инвертазой и сахарозосинтазой (SUSY), фосфорилирование образующихся гексоз и взаимопревращение гексозофосфатов и UDP-глюкозы, а также синтез сахарозы с помощью SPS и SPP [7–9]. У проростков кукурузы синтез и гидролиз сахарозы увеличиваются в ответ на применение экзогенного мелатонина, что отражается в повышенной экспрессии генов и ферментативной активности SPS и кислотной инвертазы [1]. Однако экспрессия *MdFRK2* — гена, кодирующего фруктокиназу (FRK), которая фосфорилирует фруктозу до фруктозо-6-фосфата (F6P) — была понижена как в исходной, так и в поглощающей ча-

стях листьев кукурузы, особенно при высоких концентрациях мелатонина [1].

Таким образом, накоплению сахаров в сахарной свёкле может способствовать управление экспрессией генов, связанных с углеводным обменом. Из литературы известно, что такие ферменты, как сахарозофосфатсинтаза (SPS), образующая из уридиндифосфатглюкозы (UDP-глюкозы) и фруктозо-6-фосфата сахарозофосфат, который затем превращается в сахарозу, а также сахарозосинтаза (SS) и инвертаза регулируются экзогенными гормонами БАП, ИУК, ГК, которые увеличивают активность ферментов в 2–3 раза [10].

Исходя из вышеизложенного, изучение влияния экзогенного мелатонина на активность ферментов углеводного обмена в растениях сахарной свёклы является актуальным.

Материалы и методы исследований

В качестве материалов для исследований были использованы селекционно ценные генотипы сахарной свёклы MC 1290, MC 9047 и MC 9080 Рамонской селекции. Растения сахарной свёклы выращивали из семян в пластиковых вазонах с хорошим дренажом (12×12 см), которые заполняли почвой и торфом в теплице, поддерживали при 23 °С и 14-часовом фотопериоде. Через месяц были отобраны растения аналогичного роста и размера для обработки экзогенным мелатонином. Контрольную группу снабжали 30 мл воды каждые 3 дня. Для обработки использовали 30 мл раствора мелатонина в концентрации 1000 мкМ, который вносили в почву в каждый вазон

каждые 3 дня в течение 30 дней. Для исследований отбирали листовые пластинки. По каждой концентрации было испытано по 10 штук растений каждого генотипа.

Активность ферментов инвертазы и сахарозофосфатсинтазы измеряли на спектрофотометре марки СФ-104 при длине волны 340 нм с использованием фосфат-цитратного буфера. Активность фермента фруктокиназы определяли спектрофотометрически при длине волны 340 нм с использованием трис-НСI буфера, АТФ, MgCl₂, дегидрогеназы G6P, NAD и фруктозы.

Результаты и обсуждение

Ранее нами были проведены исследования по влиянию экзогенного мелатонина на накопление сахаров в листьях сахарной свёклы [11]. Чтобы понять, как мелатонин регулирует количество углеводов в листьях культуры, необходимо изучить его влияние на активность ферментов, участвующих в метаболизме сахара. Нами были подобраны также наиболее эффективные концентрации мелатонина. Поэтому в настоящей работе использована только одна концентрация, наиболее эффективная (1000 мкмоль).

По результатам исследований выявлено, что активность фермента инвертазы в листьях сахарной свёклы, получавшей раствор мелатонина, возросла в среднем в 10 раз во всех трёх генотипах (рис. 1), что согласуется с результатами, полученными на других культурах, — мелатонин индуцирует как синтез, так и гидролиз сахарозы [1].

Активность фермента фруктокиназы снизилась в 1,6 раза, по-видимому, из-за снижения экспрессии FRK [12] под воздействием мелатонина (рис. 2). Как

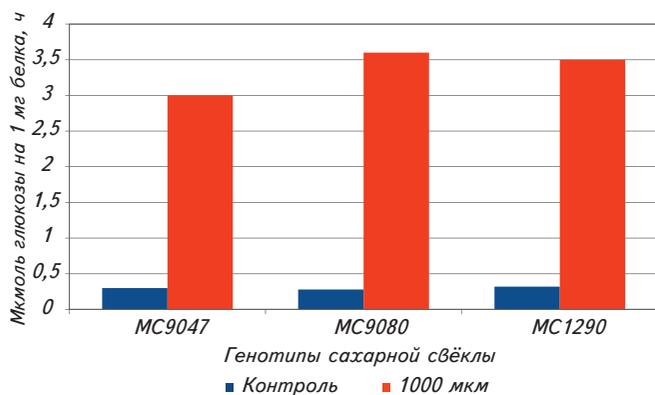


Рис. 1. Активность фермента инвертазы в листьях сахарной свёклы с применением мелатонина в концентрации 1000 мкмоль

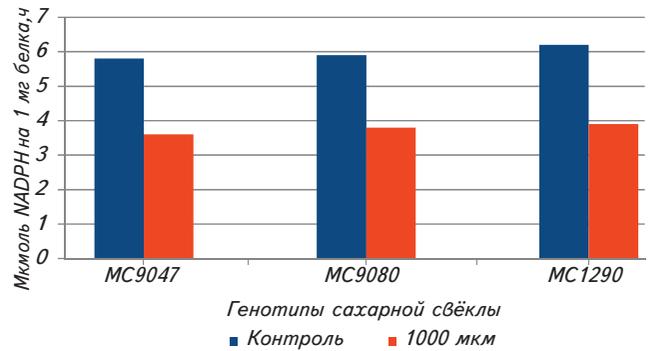


Рис. 2. Активность фермента фруктокиназы в листьях сахарной свёклы с применением мелатонина в концентрации 1000 мкмоль

следствие, было отмечено увеличение количества сахаров в листьях сахарной свёклы [11].

Активность фермента сахарозофосфатсинтазы в листьях сахарной свёклы, получавшей раствор мелатонина, возросла в среднем в 1,5 раза во всех трёх генотипах (рис. 3). Подобные результаты получены и на других растениях [1].

Результаты исследований других авторов [13] показали, что изменения углеводного обмена — активности сахарофосфосинтазы и инвертазы в том числе опосредованы также снижением экспрессии *MdFRK2* в ответ на мелатонин. Так, ингибирование фосфорилирования фруктозы может ограничить поток углеводов в гликолиз и другие пути через фруктозо-6-фосфат (F6P). Тогда у растений есть другие альтернативные подходы к увеличению потока углеводов в гликолиз — превращение сорбита

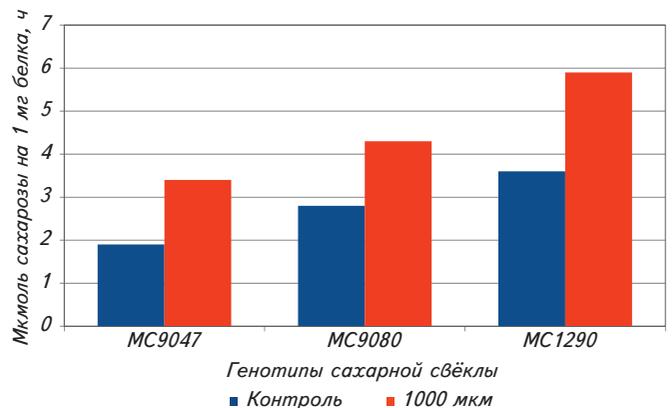


Рис. 3. Активность фермента сахарозофосфатсинтазы в листьях сахарной свёклы с применением мелатонина в концентрации 1000 мкмоль

во фруктозу посредством SDH-катализа, а также расщепление сахарозы SUSY или инвертазой и синтез сахарозы SPS [14].

Таким образом, выявленное нами ранее увеличение сахаристости листьев сахарной свёклы при обработке растений мелатонином происходит за счёт изменения активности ферментов углеводного обмена – фруктокиназы, инвертазы и сахарозофосфатсинтазы, что, в свою очередь, обусловлено подавлением экспрессии генов *MdFRK2*.

Выводы

Установлено, что подавление экспрессии генов *MdFRK2* под воздействием мелатонина ингибирует активность фермента фруктокиназы в 1,6 раза, но увеличивает активности ферментов инвертазы в 10 раз и сахарозофосфатсинтазы в 1,5 раза.

Изменения активностей ферментов могут влиять на обмен сахаров в растениях сахарной свёклы.

Список литературы

1. Раскрытие механизма воздействия мелатонина на рост проростков кукурузы: сахарный метаболизм как пример / Н. Zhao, Т. Su, L. Huo [et al.] // *Pineal Res.* – 2015. – Vol. 59. – P. 255–266.
2. Zhang, S. Клонирование и характеристика двух фруктокиназ из кукурузы / S. Zhang, S.E. Nichols, J.G. Dong // *Plant Sci.* – 2003. – No. 165. – P. 1051–1058.
3. Мелатонин регулирует протеомные изменения во время старения листьев у *Malus hupehensis* / П. Ван, Х. Сунь, Ю. Се [и др.] // *Pineal Res.* – 2015. – Vol. 57. – P. 291–307.
4. Роллан, Ф. Чувствительность к сахару и передача сигналов в растениях: сохранённые и новые механизмы / Ф. Роллан, Е. Баэна-Гонсалес, Дж. Шин // *Plant Biol.* – 2006. – Vol. 57. – P. 675–709.
5. Чо, Ю.Х. Сигнальная роль фруктозы, опосредованная FINS1/FBP у *Arabidopsis thaliana* / Ю.Х. Чо, Ю.Д. Син // *PLoS Genet.* – 2011. – Vol. 7.
6. Янсе ван Ренсбург, Х.К. Аутофагия в растениях: как марионетка, так и кукловод сахаров / Х.К. Янсе ван Ренсбург, Ван ден Энде, С. Синьорелли // *Наука о растениях.* – 2019. – № 10. – С. 14.
7. Pego, J.V. Фруктокиназы растений: семейная тусовка сладкоежек / J.V. Pego, S.C. Smeeckens // *Trends Plant Sci.* – 2000. – Vol. 5. – P. 531–536.
8. Руан, Ю.Л. Метаболизм сахарозы: ворота к разнообразному использованию углерода и передаче

сигналов сахара / Ю.Л. Руан // *Plant Biol.* – 2014. – Т. 65. – С. 33–67.

9. Метаболизм сахара и накопление в плодах трансгенных яблонь со сниженным синтезом сорбита / М. Ли, П. Ли, Ф. Ма [и др.] // *Садоводство.* – 2018. – Т. 10.

10. Сакало, В.Д. Гормональная регуляция активности сахарозофосфатсинтазы и сахарозосинтазы сахарной свёклы / В.Д. Сакало, В.М. Курчий // *Физиология растений.* – 2004. – Т. 51. – № 2. – С. 205–210.

11. Усачёва, Р.В. Влияние экзогенного мелатонина на накопление сахара в растениях *Beta vulgaris* L. / Р.В. Усачёва // *Сахар.* – 2023. – № 2. – С. 32–35.

12. Опосредованное мелатонином накопление сахара и ингибирование роста в растениях яблони включает понижающую регуляцию экспрессии и активности фруктокиназы / Ян. Цзинцзин, Дж. Чунся, В. Чьженьян [и др.] // *Наука о растениях.* – 2019. – Т. 10.

13. Повышение активности *MdFRK2*, фруктокиназы с высоким сродством, приводит к усилению метаболизма сорбита и снижению метаболизма сахарозы в листьях яблони / Дж. Янг, Л.С. Чжу, В.Ф. Цуй [и др.] // *Hortic.* – 2018. – № 5. – С. 71.

14. Клонирование NAD-зависимой сорбитол-дегидрогеназы из плодов яблони и экспрессия генов / К. Ямада, Ю. Оура, Х. Мори, С. Ямаки // *Физиология растительных клеток.* – 1998. – № 39. – С. 1375–1379.

Аннотация. Проведён анализ влияния мелатонина на активности ферментов углеводного обмена растений *Beta vulgaris* L. Исследование показало увеличение активности инвертазы и сахарозосинтазы и снижение активности фруктокиназы. Изучается механизм действия мелатонина на углеводный обмен в целях управления процессом накопления сахаров.

Ключевые слова: сахарная свёкла, мелатонин, тепличные условия, ферменты углеводного обмена.

Summary. Analysis of melatonin influence on activity of carbohydrate exchange enzymes in *Beta vulgaris* L. plants has been conducted. The investigation has shown an increase of invertase and saccharose phosphatesynthase activity and decrease of fruitkinase activity. The mechanism of melatonin effect on carbohydrate exchange is studied with the aim to control sugars' accumulation process.

Keywords: sugarbeet, melatonin, greenhouse conditions, carbohydrate exchange enzymes.