

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.07.077>

УДК 581.1

Ю.В. Карпец¹, Ю.Е. Колупаев^{1,2}, А.П. Дмитриев³

¹ Харьковський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

² Харьковський національний університет ім. В.Н. Каразіна

³ Інститут кліточної біології та генетическої інженерії НАН України, Київ

E-mail: plant_biology@ukr.net

Индукция синтеза NO в корнях проростков пшеницы и развития их теплоустойчивости экзогенными L-аргинином и нитратом

Представлено членом-корреспондентом НАН України А.П. Дмитриевым

*Показано, что обработка корней интактных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) L-аргинином и нитратом натрия вызывает увеличение в них содержания оксида азота (NO) и повышает устойчивость к повреждающему прогреву. Аргининзависимое увеличение содержания NO угнетается предобработкой корней ингибитором NO-синтазы L-NAME (*N^G-nitro-L-arginine methyl ester*), а нитратзависимое — ингибитором нитратредуктазы вольфраматом натрия. Указанные ингибиторы устраняют и положительное влияние экзогенных L-аргинина и нитрата на теплоустойчивость проростков, что свидетельствует о связи такого влияния с процессом синтеза NO. При комбинированной обработке проростков L-аргинином и нитратом их влияние на содержание NO в корнях и развитие теплоустойчивости проростков нивелируется. Вызываемое L-аргинином угнетение нитратзависимого образования NO в корнях проростков частично снимается ингибитором NO-синтазы L-NAME. Таким образом, впервые получены данные об антагонизме аргинин- и нитратзависимого путей синтеза NO в растительных клетках.*

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, оксид азота, L-аргинин, нитрат, NO-синтаза, нитратредуктаза, теплоустойчивость.

Оксид азота (NO) является важным участником сигналинга в клетках растений [1–3]. Он задействован в трансдукции в генетический аппарат сигналов, необходимых для активации защитных реакций растений против биотических и абиотических стрессов, в том числе к гипертермии [4]. Различные доноры NO способны индуцировать устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды [5, 6].

В то же время представления об образовании NO у растений остаются предметом дискуссий [7]. Основными считают L-аргинин- и нитрат/нитритзависимые пути [8]. Предполагается, что аргининзависимый путь синтеза NO аналогичен тому, который реализуется в клетках животных. Однако к настоящему времени гомологи NO-синтазы животных выявлены только у зеленых водорослей, но не у высших растений [9]. Вместе с тем есть основания полагать, что у высших растений имеются белки, которые могут генерировать NO, ис-

© Ю.В. Карпец, Ю.Е. Колупаев, А.П. Дмитриев, 2017

пользуя в качестве субстрата L-аргинин. Эта реакция, как и катализируемая NO-синтазой животных, происходит при наличии НАДФ•Н, ФМН, ФАД, кальмодулина и ионов кальция [10]. В пользу существования у растений аргининзависимого образования NO свидетельствуют данные об угнетении его синтеза и некоторых NO-зависимых процессов с помощью ингибиторов NO-синтазы животных [11]. Кроме того, в последние годы получены экспериментальные данные о значительном (возможно, доминирующем) вкладе в синтез NO пути восстановления нитратов с участием нитратредуктазы [7, 12].

При исследовании NO-зависимых адаптивных процессов у растений в качестве донора NO обычно используют нитропруссид натрия [5]. В то же время экзогенное действие таких естественных источников оксида азота, как L-аргинин и нитрат, на содержание NO в растительных тканях и их устойчивость к стрессорам остается малоисследованным, что не позволяет оценить вклад каждого из этих путей в формирование адаптивных реакций растений. Совсем неясно — как взаимодействуют между собой два основных пути синтеза NO и как это взаимодействие отражается на формировании NO-индуцированной устойчивости растений.

Наша цель — исследовать раздельное и комбинированное влияние L-аргинина и нитрата натрия на эндогенное содержание NO в корнях проростков пшеницы и развитие их устойчивости к повреждающему прогреву.

Материалы и методы. Объектом исследования служили этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Досконала, выращенные при 22 °С на очищенной водопроводной воде.

В среду инкубации корней добавляли L-аргинин в конечных концентрациях диапазона 0,2–20 мМ или нитрат натрия (1–50 мМ), и выдерживали проростки на указанной среде в течение 24 ч.

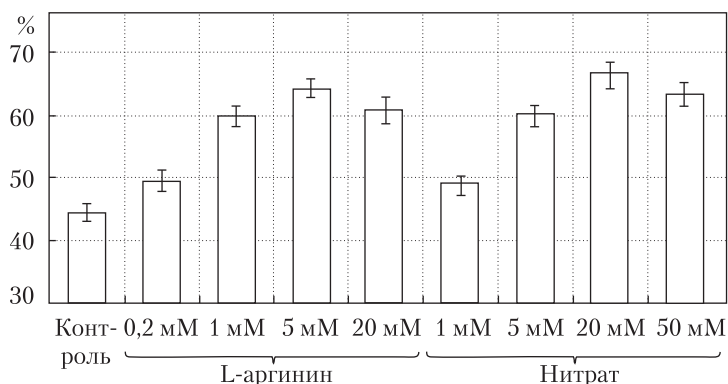
При исследовании эффектов ингибиторов NO-синтазы L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester, 5 мМ) и нитратредуктазы вольфрамата натрия (5 мМ) инкубация корней в растворах этих соединений составляла 26 ч. При оценке сочетанного действия доноров NO и указанных ингибиторов последние добавляли в среду инкубации проростков за 2 ч до внесения в нее L-аргинина или нитрата. Концентрации L-NAME и вольфрамата натрия выбирали на основании предварительных опытов.

В отдельной серии экспериментов изучали комбинированное действие L-аргинина и нитрата, а также комбинаций валина, аспарагина и аргинина с нитратом на содержание NO в корнях проростков пшеницы и их теплоустойчивость.

Для определения теплоустойчивости проростков их подвергали повреждающему прогреву в водяном ультратермостате при $46,0 \pm 0,1$ °С в течение 10 мин. После этого проростки всех вариантов переносили на очищенную водопроводную воду. Через 4 суток после воздействия повреждающего прогрева оценивали относительное количество выживших проростков [4]. Содержание NO в корнях проростков анализировали с использованием реактива Грисса [4].

Эксперименты воспроизводили независимо три раза при трехкратной повторности в пределах каждого отдельного опыта. На рисунках приведены средние значения и их стандартные ошибки. Кроме случаев, оговоренных специально, обсуждаются эффекты, достоверные при $P \leq 0,05$.

Рис. 1. Концентрационная зависимость влияния L-аргинина и нитрата на выживание проростков пшеницы (%) после повреждающего прогрева (46 °С, 10 мин)



Динамика содержания NO в корнях проростков пшеницы

Вариант	Время				
	15 мин	30 мин	2 ч	4 ч	24 ч
Контроль	61,6 ± 2,0	63,4 ± 2,6	59,8 ± 2,8	60,4 ± 2,3	64,2 ± 2,2
L-аргинин 5 мМ	66,8 ± 2,2	77,0 ± 2,5	67,8 ± 3,4	60,6 ± 2,0	58,0 ± 2,5
L-аргинин 20 мМ	69,8 ± 1,8	78,7 ± 2,8	69,6 ± 3,2	64,4 ± 1,8	52,0 ± 2,0
Нитрат 20 мМ	91,0 ± 2,5	108,9 ± 3,0	170 ± 6,2	152 ± 2,6	104 ± 3,8
Нитрат 50 мМ	99,0 ± 2,0	141 ± 4,8	204 ± 7,4	167 ± 5,2	82,4 ± 2,2

Результаты исследований и их обсуждение. Инкубация проростков пшеницы на растворах L-аргинина в концентрациях 1, 5 и 20 мМ вызывала заметное повышение их теплоустойчивости (рис. 1). В более низкой концентрации эта аминокислота не оказывала существенного влияния на выживание проростков после повреждающего прогрева. Под влиянием нитрата в достаточно широком диапазоне концентраций (5–50 мМ) также происходило повышение устойчивости проростков к гипертермии (см. рис. 1).

Ранее нами было показано, что индуцируемые действием стрессоров или доноров NO изменения NO-гомеостаза в корнях проявлялись более заметно, чем в побегах проростков пшеницы [4, 13]. В связи с этим оценивали влияние экзогенных L-аргинина и нитрата как возможных индукторов образования NO на его содержание в корнях.

В контрольном варианте количество NO в корнях в течение эксперимента существенно не изменялось (таблица). Под влиянием 5 и 20 мМ L-аргинина через 30 мин после начала обработки содержание NO в корнях достоверно повышалось, затем уменьшалось, а через 24 ч после обработки становилось даже ниже, чем в контроле.

При обработке нитратом в концентрациях 20 и 50 мМ содержание NO в корнях существенно повышалось уже через 15 мин (см. таблицу). Максимальное влияние нитрата на содержание NO в корнях наблюдалось через 2 ч после начала обработки, через 24 ч этот эффект заметно уменьшался, однако абсолютные значения содержания NO в корнях с обработкой нитратом превышали контроль.

Под влиянием ингибитора NO-синтазы животных L-NAME отмечалась тенденция к незначительному снижению содержания NO в корнях проростков, при этом практически полностью нивелировалось повышение содержания NO, вызываемое обработкой проростков L-аргинином (рис. 2, а).

Ингибитор нитратредуктазы вольфрамат натрия вызывал уменьшение содержания NO в корнях проростков и полностью снимал эффект увеличения количества NO, индуцированный обработкой корней нитратом (см. рис. 2). В связи с этим можно полагать, что нитратиндуцируемое увеличение содержания NO в корнях проростков обусловлено повышением активности нитратредуктазы.

Обработка корней проростков ингибитором NO-синтазы животных L-NAME вызывала небольшое повышение их теплоустойчивости (рис. 2, б). При этом, однако, под влиянием L-NAME заметно уменьшалось положительное влияние L-аргинина на выживание проростков после теплового стресса. Похожие эффекты наблюдались при изучении влияния экзогенного L-аргинина на холодоустойчивость фисташки: положительное влияние аминокислоты устранялось обработкой молодых растений L-NAME [6].

Под влиянием вольфрамата отмечалась тенденция к небольшому увеличению теплоустойчивости проростков пшеницы. В то же время этот ингибитор нитратредуктазы существенно снижал положительное влияние нитрата на теплоустойчивость проростков.

При обработке корней проростков РТЮ их теплоустойчивость немного повышалась (см. рис. 2, б). При этом скавенджер NO значительно уменьшал положительное влияние на теплоустойчивость обработки проростков как L-аргинином, так и нитратом. В связи с этим есть основания полагать, что индуцирование теплоустойчивости проростков L-аргинином и нитратом обусловлено их действием именно как доноров NO.

Ингибирование стимулируемого экзогенным L-аргинином повышения содержания NO в корнях действием L-NAME позволяет полагать, что данный эффект обусловлен функционированием ферментной системы, подобной NO-синтазе животных. С другой стороны, нитратстимулируемое повышение содержания NO подавлялось ингибитором нитратредуктазы вольфраматом, что указывает на роль нитратредуктазы в образовании NO в растительных клетках при обработке нитратом.

Как уже отмечалось, возможное функциональное взаимодействие L-аргинина и нитрата как потенциальных источников NO в растительных клетках до сих пор не изучалось. В связи с этим исследовали влияние обработки проростков L-аргинином и нитратом на содержание в них NO и их теплоустойчивость. Оказалось, что L-аргинин значительно уменьшал индуцированное нитратом повышение содержания NO в корнях (рис. 3, а). В то же время другие аминокислоты (валин и аспарагин) практически не влияли на содержание NO в корнях проростков, обработанных нитратом, что свидетельствует о специфичности действия L-аргинина.

При совместной обработке корней L-аргинином и нитратом теплоустойчивость проростков не отличалась от значений контроля (см. рис. 3, б). Иными словами, эти соединения нивелировали положительное действие друг друга как на содержание NO в корнях, так и на теплоустойчивость проростков пшеницы. Другие аминокислоты (валин и аспарагин) не влияли на индуцируемое нитратом повышение теплоустойчивости проростков пшеницы. Это позволяет полагать, что антагонизм влияния экзогенных L-аргинина и нитрата на теплоустойчивость проростков пшеницы обусловлен взаимным угнетением образования NO.

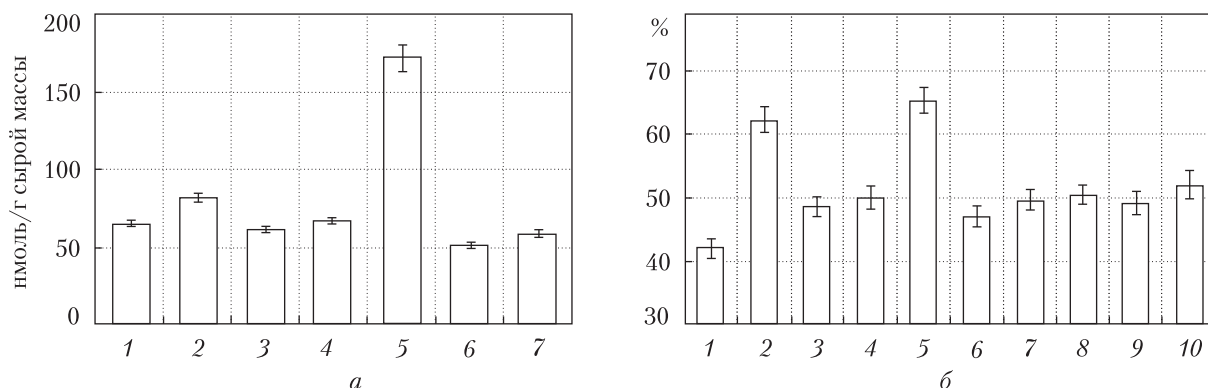


Рис. 2. Влияние L-NAME на аргининзависимое и вольфрамата на нитратзависимое образование NO в корнях пшеницы (нмоль/г сырой массы) (а) и влияние L-аргинина, L-NAME, нитрата, вольфрамата и РТЮ на выживание (%) проростков пшеницы после повреждающего прогрева (46 °С, 10 мин) (б): 1 – контроль; 2 – L-аргинин (5 мМ); 3 – L-NAME (5 мМ); 4 – L-аргинин (5 мМ) + L-NAME (5 мМ); 5 – нитрат (20 мМ); 6 – вольфрабат (5 мМ); 7 – нитрат (20 мМ) + вольфрабат (5 мМ); 8 – РТЮ (100 мкМ); 9 – L-аргинин (5 мМ) + РТЮ (100 мкМ); 10 – нитрат (20 мМ) + РТЮ (100 мкМ)

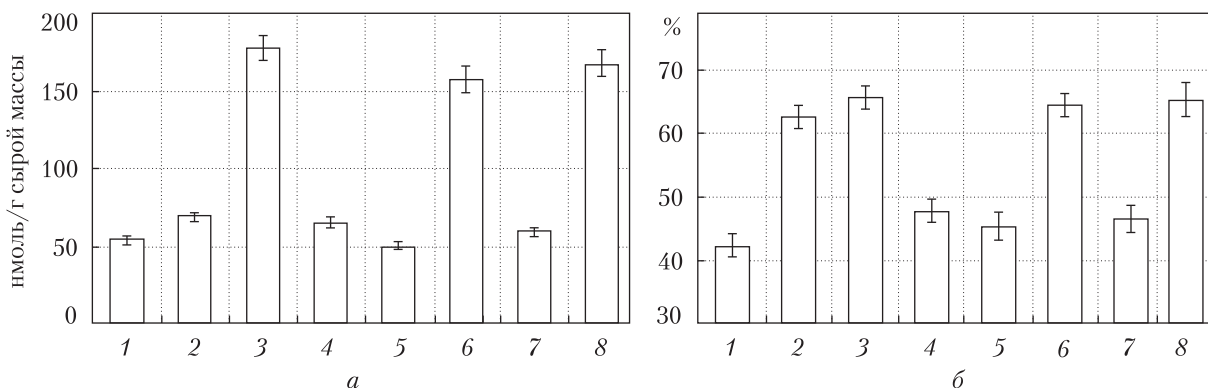
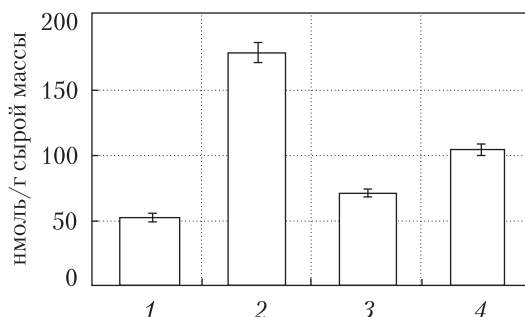


Рис. 3. Комбинированное влияние нитрата и аминокислот на содержание NO (нмоль/г сырой массы) в корнях проростков (а) и их выживание (%) (б) после повреждающего прогрева (46 °С, 10 мин): 1 – контроль; 2 – L-аргинин (5 мМ); 3 – нитрат (20 мМ); 4 – L-аргинин (5 мМ) + нитрат (20 мМ); 5 – валин (5 мМ); 6 – нитрат (20 мМ) + валин (5 мМ); 7 – аспарагин (5 мМ); 8 – аспарагин (5 мМ) + нитрат (20 мМ)

Рис. 4. Содержание NO (нмоль/г сырой массы) в корнях проростков пшеницы при действии комбинации нитрата, L-аргинина и L-NAME: 1 – контроль; 2 – нитрат (20 мМ); 3 – L-аргинин (5 мМ) + нитрат (20 мМ); 4 – L-аргинин (5 мМ) + нитрат (20 мМ) + L-NAME (5 мМ)



Примечательно, что ингибирующее влияние L-аргинина на нитратстимулируемое образование NO уменьшалось при обработке проростков ингибитором NO-синтазы животных L-NAME (рис. 4). Эти результаты согласуются с данными работы E.P. Rosales и соавт. [14], в которой показано стимулирующее влияние L-NAME на активность нитратредуктазы.

В целом полученные нами результаты указывают на функционирование в корнях пшеницы, по крайней мере, двух путей образования NO — зависимых от L-аргинина и нитрата. По-видимому, вклад второго пути в определенных экспериментальных условиях количественно более существенный (см. таблицу). В то же время экзогенный L-аргинин может не только индуцировать образование NO в корнях проростков, хотя и в меньшей степени, чем нитрат (см. таблицу), но и вызывать подавление нитратзависимого образования NO (см. рис. 3).

Есть основания полагать, что повышение содержания NO в корнях пшеницы, вызываемое экзогенными как L-аргинином, так и нитратом, индуцирует развитие теплоустойчивости проростков. О связанном с образованием NO действии нитрата и аргинина на теплоустойчивость проростков свидетельствует снятие их эффектов ингибиторами NO-синтазы, нитратредуктазы и скавенджером оксида азота (см. рис. 2, б).

Выявленные впервые нами эффекты антагонизма экзогенных L-аргинина и нитрата как источников NO и индукторов развития теплоустойчивости растительных клеток требуют дальнейших исследований. Следует также отметить, что повышение теплоустойчивости растительных объектов может вызывать не только их обработка потенциальными донорами NO, но и соединениями, угнетающими его образование (ингибиторы NO-синтазы и нитратредуктазы), а также его скавенджером РГИО (см. рис. 2, б). Ранее в работе S.A. Vital и соавт. [15] и в наших исследованиях [4] были показаны эффекты индуцирования антиоксидантной системы растений не только донорами, но и антагонистами NO. Эти результаты в совокупности с приведенными в настоящей работе данными о возможном антагонизме разных путей синтеза NO свидетельствуют как о наличии в растительных клетках сложной системы регуляции образования NO, так и о неоднозначном (положительном и отрицательном) влиянии изменений содержания NO на функционирование протекторных систем и устойчивость растений, механизмы которого еще предстоит исследовать.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриев А.П. Сигнальная роль оксида азота у растений. *Цитология и генетика*. 2004. **38**, № 4. С. 67–75.
2. Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T. Nitric oxide synthesis and signalling in plants. *Plant Cell Environ.* 2008. **31**, № 5. P. 622–631. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01761.x>
3. Khan M.N., Mobin M., Abbas Z.K. Nitric oxide and high temperature stress: a physiological perspective. *Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants*. M.N. Khan et al. (Eds.). Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2015. P. 77–94. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-17804-2_5
4. Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Vayner A.A. Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. **62**, № 1. P. 65–70. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443714060090>
5. Siddiqui M.H., Al-Whaibi M.H., Basalah M.O. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*. 2011. **248**, № 3. P. 447–455. doi: <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0206-9>
6. Barand A., Nasibi F., Manouchehri Kalantari Kh. The effect of arginine pretreatment in the increase of cold tolerance in *Pistacia vera* L. *in vitro*. *Russ. Agricult. Sci.* 2015. **41**, № 5. P. 340–346. doi: <https://doi.org/10.3103/S1068367415050043>

7. Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Harren F.J.M., Hebelstrup K.H., Gupta K.J. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants*. 2013. **5**, pls052. doi: <https://doi.org/10.1093/aobpla/pls052>
8. Глянько А.К., Митанова Н.Б. Синтез оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков гороха. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біол.* 2011. Вип. 3. С. 6–14.
9. Roszer T. Biosynthesis of nitric oxide in plants. *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology*. M.N. Khan et al. (Eds.). Cham: Springer, 2014. P. 17–32. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-06710-0_2
10. Corpas F.J., Barroso J.B. Nitric oxide synthase-like activity in higher plants. *Nitric Oxide*. 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.10.009>
11. Crawford N.M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants. *J. Exp. Bot.* 2005. **57**, № 3. P. 471–478. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erj050>
12. Shi F.-M., Li Y.-Z. Verticillium dahliae toxins-induced nitric oxide production in *Arabidopsis* is major dependent on nitrate reductase. *BMB Rep.* 2008. **41**, № 1. P. 79–85.
13. Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Yastreb T. O., Oboznyi A.I. Induction of heat resistance in wheat seedlings by exogenous calcium, hydrogen peroxide, and nitric oxide donor: functional interaction of signal mediators. *Russ. J. Plant Physiol.* 2016. **63**, № 4. P. 490–498. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443716040075>
14. Rosales E.P., Iannone M.F., Groppa M.D., Benavides M.P. Nitric oxide inhibits nitrate reductase activity in wheat leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 2011. **49**, № 2. P. 124–130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.10.009>
15. Vital S.A., Fowler R.W., Virgen A., Gossett D.R., Banks S.W., Rodriguez J. Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced upregulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue. *Environ. Exp. Bot.* 2008. **62**, № 1. P. 60–68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.07.006>

Поступило в редакцию 07.03.2017

REFERENCES

1. Dmitriev, A. P. (2004). Signal role of nitric oxide in plants. *Tsitol. Genet.*, 38, No. 4, pp. 67-75 (in Russian).
2. Wilson, I. D., Neill, S. J. & Hancock, J. T. (2008). Nitric oxide synthesis and signalling in plants. *Plant Cell Environ.*, 31, No. 5, pp. 622-631. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01761.x>
3. Khan, M. N., Mobin, M. & Abbas, Z. K. (2015). Nitric oxide and high temperature stress: a physiological perspective. In Khan, M. N. et al. (Eds.). *Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants* (pp. 77-94). Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-17804-2_5
4. Karpets, Yu. V., Kolupaev, Yu. E. & Vayner, A. A. (2015). Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. *Russ. J. Plant Physiol.*, 62, No. 1, pp. 65-70. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443714060090>
5. Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H. & Basalah, M. O. (2011). Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*, 248, No. 3, pp. 447-455. doi: <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0206-9>
6. Barand, A., Nasibi, F. & ManouchehriKalantari, Kh. (2015). The effect of arginine pretreatment in the increase of coldtolerance in *Pistacia vera* L. *in vitro*. *Russ. Agricult. Sci.*, 41, No. 5, pp. 340-346. doi: <https://doi.org/10.3103/S1068367415050043>
7. Mur, L. A. J., Mandon, J., Persijn, S., Cristescu, S. M., Moshkov, I. E., Novikova, G. V., Hall, M. A., Harren, F. J. M., Hebelstrup, K. H. & Gupta, K. J. (2013). Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants*, 5, pls052. doi: <https://doi.org/10.1093/aobpla/pls052>
8. Glyan'ko, A. K. & Mitanova, N. B. (2011). Synthesis nitric oxide (NO) in roots etiolated seedlings of pea. *Visn. Kharkiv Nat. Agr. Un-ty. Ser. Biol.*, Iss. 3, pp. 6-14 (in Russian).
9. Roszer, T. (2014). Biosynthesis of nitric oxide in plants. In Khan, M. N. et al. (Eds.). *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology* (pp. 17-32). Cham: Springer. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-06710-0_2
10. Corpas, F. J. & Barroso, J. B. (2016). Nitric oxide synthase-like activity in higher plants. *Nitric Oxide*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.10.009>
11. Crawford, N. M. (2005). Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants. *J. Exp. Bot.*, 57, No. 3, pp. 471-478. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erj050>
12. Shi, F.-M. & Li, Y.-Z. (2008). Verticillium dahliae toxins-induced nitric oxide production in *Arabidopsis* is major dependent on nitrate reductase. *BMB Rep.*, 41, No. 1, pp. 79-85.

13. Karpets, Yu. V., Kolupaev, Yu. E., Yastreb, T. O. & Oboznyi, A. I. (2016). Induction of heat resistance in wheat seedlings by exogenous calcium, hydrogen peroxide, and nitric oxide donor: functional interaction of signal mediators. *Russ. J. Plant Physiol.*, 63, No. 4, pp. 490-498. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443716040075>
14. Rosales, E. P., Iannone, M. F., Groppa, M. D. & Benavides, M. P. (2011). Nitric oxide inhibits nitrate reductase activity in wheat leaves. *Plant Physiol. Biochem.*, 49, No. 2, pp. 124-130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.10.009>
15. Vital, S. A., Fowler, R. W., Virgen, A., Gossett, D. R., Banks, S. W. & Rodriguez, J. (2008). Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced upregulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue. *Environ. Exp. Bot.*, 62, No. 1, pp. 60-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.07.006>

Received 07.03.2017

Ю.В. Карпець¹, Ю.Е. Колупаєв^{1,2}, О.П. Дмитрієв³

¹ Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

² Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

³ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ

E-mail: plant_biology@ukr.net

ІНДУКУВАННЯ СИНТЕЗУ NO В КОРЕНЯХ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ І РОЗВИТКУ ЇХ ТЕПЛОСТІЙКОСТІ ЕКЗОГЕННИМИ L-АРГІНІНОМ І НІТРАТОМ

Показано, що обробка коренів інтактних проростків пшениці (*Triticum aestivum* L.) L-аргініном і нітратом натрію спричиняє збільшення в них вмісту оксиду азоту (NO) і підвищує стійкість до ушкоджуючого прогріву. Аргінінзалежне збільшення вмісту NO пригнічується передобробкою коренів інгібітором NO-синтази L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester), а нітратзалежне — інгібітором нітратредуктази вольфрамом натрію. Ці інгібітори усувають і позитивний вплив екзогенних L-аргініну і нітрату на теплостійкість проростків, що свідчить про зв'язок такого впливу з процесом синтезу NO. При комбінованій обробці проростків L-аргініном і нітратом їх вплив на вміст оксиду азоту в коренях і розвиток теплостійкості проростків нівелюється. Спричинюване L-аргініном пригнічення нітратзалежного утворення NO в коренях проростків частково знімається інгібітором NO-синтази L-NAME. Таким чином, вперше отримані дані про антагонізм аргінін- і нітратзалежного шляхів синтезу NO в рослинних клітинах.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, оксид азоту, L-аргінін, нітрат, NO-синтаза, нітратредуктаза, теплостійкість.

Yu. V. Karpets¹, Yu. E. Kolupaev^{1,2}, A. P. Dmitriev³

¹ V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University

² Karazin Kharkiv National University

³ Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: plant_biology@ukr.net

INDUCTION OF NO SYNTHESIS IN ROOTS OF WHEAT PLANTLETS AND DEVELOPMENT OF THEIR HEAT RESISTANCE BY EXOGENOUS L-ARGININE AND NITRATE

The treatment of roots of intact plantlets of wheat (*Triticum aestivum* L.) with L-arginine and sodium nitrate caused an increase of the content of nitric oxide (NO) in them and raised the resistance to the damaging heating. The arginine-dependent increase of the NO content was suppressed by the pretreatment of roots with NO-synthase inhibitor L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester), and the nitrate-dependent one — with nitrate reductase inhibitor, sodium tungstate. These inhibitors eliminated also the positive influence of exogenous L-arginine and nitrate on the heat resistance of plantlets that confirms the crosstalk of such influence with the process of nitric oxide synthesis. At the combined treatment of plantlets with L-arginine and nitrate, their influence on the content of nitric oxide in roots and the development of the heat resistance of plantlets was leveled. The oppression of the nitrate-dependent formation of nitric oxide in plantlets roots, caused by L-arginine, was partially removed by NO-synthase inhibitor L-NAME. Thus, the data on the antagonism of the arginine- and nitrate-dependent pathways of nitric oxide synthesis in plant cells are obtained for the first time.

Keywords: *Triticum aestivum*, nitric oxide, L-arginine, nitrate, NO-synthase, nitrate reductase, heat resistance.