

# Влияние экзогенного мелатонина на накопление сахара 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»

## Введение

Сахарная свёкла является важной сахароносной культурой, и увеличение содержания сахара — одна из основных целей при создании новых гибридов сахарной свёклы. Изучение экзогенного влияния некоторых веществ, в том числе гормонов, влияющих на активизацию и ингибирование генов, участвующих в метаболизме сахара на молекулярном уровне, представляется актуальным направлением. В литературе известны 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], арабидопсиса [4] и *Prunus avium* × *Prunus cerasus* [5], сахарного тростника [6], риса, томата [7–9], картофеля [10, 11]. Мелатонин, опосредованно понижая экспрессию *FRK2* — гена, кодирующего фруктокиназу (FRK), значительно влияет на концентрацию сахаров. В растительных клетках концентрация сахаров в значительной степени регулируется их метаболизмом, который обуславливает расщепление сахарозы инвертазой и сахарозосинтазой (SUSY), фосфорили-

рование образующихся гексоз и взаимопревращение гексозофосфатов и UDP-глюкозы, а также синтез сахарозы с помощью SPS и SPP. У проростков кукурузы синтез и гидролиз сахарозы увеличились в ответ на применение экзогенного мелатонина, что отражается в повышенной экспрессии генов и ферментативной активности SPS и кислотной инвертазы [1]. Однако экспрессия *FRK2* — гена, кодирующего фруктокиназу (FRK), которая фосфорилирует фруктозу до фруктозо-6-фосфата (F6P), снижается, особенно при высоких концентрациях мелатонина [2]. В результате фруктоза накапливается в клетках растения. Фруктокиназа является «воротами» к метаболизму фруктозы, а ортологи *FRK2* — основными фосфорилирующими фруктозу высокоаффинными ферментами в томатах, рисе (*Oryza sativa*), кукурузе и картофеле (*Solanum tuberosum*). Подавление ортологов *FRK2* приводило к фенотипам, аналогичным фенотипам растений, обработанных высокими концентрациями мелатонина (повышенные концентрации сахара и замедленный рост). Например, антисмысловое подавление ортолога *FRK2* (*StFRK1*) в картофеле привело к повышению уровня сахаров (фруктозы, глюкозы,

сахарозы) и снижению роста в надземной части растения. Кроме того, результаты показали, что избыточная экспрессия *MdFRK2* в яблоне снижала концентрацию фруктозы, глюкозы и сахарозы и что мелатонин регулирует накопление сахара и рост растений путём ингибирования экспрессии *FRK2*. Но в растениях такой важной сахароносной культуры, как сахарная свёкла, влияние этого гормона изучено только как антистрессовый фактор [12], влияющий на солеустойчивость растений. Изучение данного вопроса интересно с точки зрения выявления механизмов действия генов, задействованных в обмене сахаров, и дальнейшей перспективы работы с ними методами геномного редактирования в целях увеличения сахаристости сахарной свёклы.

## Материалы и методы исследований

Для экспериментов были отобраны растения сахарной свёклы следующих генотипов: МС 1290, МС 9047 и МС 9080. Культивирование микроклонов *Beta vulgaris* L. осуществляли на питательной среде MS с добавлением мелатонина в концентрациях 0, 100, 500, 1000 и 5000 мкМ в течение 4 недель в культуре *in vitro*. Параллель-

но с этим выращивали растения сахарной свёклы из семян в пластиковых вазонах с хорошим дренажом (12×12 см), заполненных почвой и торфом в теплице, выдерживая 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 концентрациях 0, 100, 500, 1000 и 5000 мкМ, который вносили в почву в каждый вазон каждые 3 дня в течение 14 дней. Для исследований брали надземную часть растений из теплицы для сравнения с микроклонами, культивируемыми на питательной среде MS *in vitro*. По каждой концентрации было испытано по 10 штук растений каждого генотипа. Сахара экстрагировали 96%-ным этиловым спиртом. Количество общих сахаров измеряли на сахариметре марки АП-05 «Швабе» с погрешностью 0,05 °Z.

### Результаты и обсуждение

В ходе исследования было отмечено, что внесение мелатонина в питательную среду в низкой концентрации (0, 100, 500 мкМ) не вызывало значительных фенотипических изменений в развитии регенерантов (рис. 1 — а, б, в); однако добавление мелатонина в высокой концентрации (1000 и 5000 мкМ) ингибировало рост микроклонов сахарной свёклы (рис. 1 г). В случае обработки растений, выращенных в теплице в грунте, такого ингибирующего действия мелатонина не было отмечено. При всех используемых концентрациях растения росли и развивались на уровне с контролем (рис. 2).

По результатам исследований выявлено, что концентрация сахаров в группе растений, получавших мелатонин, была выше, чем в контрольной группе, получавшей воду (рис. 3).

Все исследуемые генотипы растений сахарной свёклы, выращенные в грунте, показали увеличение

сахаристости в листовых пластинках с применением мелатонина: при концентрации 100 мкМ в среднем в 1,2 раза; 500 мкМ — в 1,3 раза; 1000 мкМ — в 1,6 раза; 5000 мкМ — в 1,7 раза.

Генотипы микроклонов сахарной свёклы, выращенные в культуре *in vitro*, также показали увеличение сахаристости с применением мелатонина: при концентрации 100 мкМ в среднем в 1,12 раза; 500 мкМ — в 1,5 раза (рис. 4). Применение мелатонина в концентрации 1000 и 5000 мкМ ингибировало рост растений или приводило их к гибели.

Итак, результаты проведённых экспериментов показали, что экзогенный мелатонин положительно влияет на накопление сахаров в листьях сахарной свёклы, а как известно из литературы, это связано с влиянием на экспрессию генов *MdFRK2*, *SPS*, *SS*. Сахара, накапливаясь в клетке, служили сигнальными молекулами, которые запускают механизм процессов, связанных



Рис. 1. Культивирование регенерантов сахарной свёклы *in vitro*: а — контроль; б — с мелатонином в концентрации 100 мкМ; в — с мелатонином в концентрации 500 мкМ; г — с мелатонином в концентрации 1000 и 5000 мкМ



Рис. 2. Внешний вид растений сахарной свёклы в теплице: а – контроль; б – с обработкой мелатонином

с обменом и утилизацией этих сахаров. Мелатонин ингибирует гены, участвовавшие в обмене сахаров, и таким образом способствует накоплению их в клетке, что мы и наблюдали в опытах. Наиболее эффективной для по-

вышения уровня сахаров являлась концентрация мелатонина 1000 и 5000 мкМ (в 1,6–1,7 раза) у растений, выращенных в грунте, и концентрация 500 мкМ (в 1,5 раза) у регенерантов в культуре тканей.

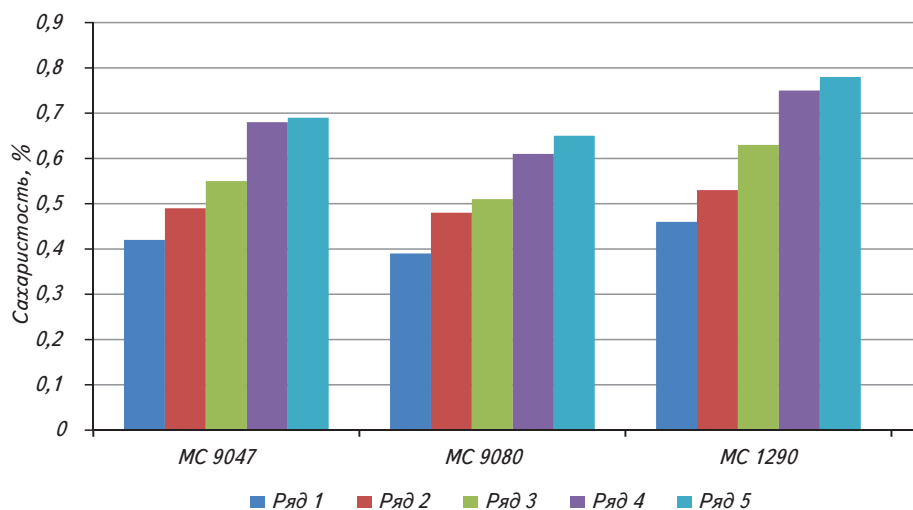


Рис. 3. Средние показатели сахаристости у растений сахарной свёклы, выращенных в теплице: ряд 1 – контроль; ряд 2 – концентрация мелатонина 100 мкМ; ряд 3 – концентрация мелатонина 500 мкМ; ряд 4 – концентрация мелатонина 1000 мкМ; ряд 5 – концентрация мелатонина 5000 мкМ

## Выводы

Установлено, что мелатонин, влияя на экспрессию генов, участвующих в углеводном обмене, стимулирует накопление сахаров в листьях растений сахарной свёклы.

Концентрации мелатонина положительно коррелировали с содержанием сахаров в надземной части растений сахарной свёклы. По сравнению с контролем количество сахаров в листьях, обработанных 1000 мкМ мелатонина, увеличилось в 1,5–1,7 раза.

## Заключение

В дальнейшем планируется изучение механизма действия экзогенного мелатонина на экспрессию генов фруктокиназы *MdFRK2*, SPS и инвертазы для управления процессом накопления сахаров на молекулярном уровне. Данное направление исследований является весьма актуальным и перспективным в плане управления углеводным обменом сахарной свёклы методами геномного редактирования.

## Список литературы

1. Zhao, H. Раскрытие механизма воздействия мелатонина на рост проростков кукурузы: сахарный метаболизм как пример / H. Zhao, T. Su, L. Huo [et al.] // J. 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. Ван, П. Мелатонин регулирует протеомные изменения во время старения листьев у *Malus hupehensis* / П. Ван, Х. Сунь, Ю. Се [и др.] // J. Pineal Res. – 2015. – Vol. 57. – P. 291–307.
4. Zhao, H. Мелатонин регулирует углеводный обмен и защищает от инфекции *Pseudomonas*

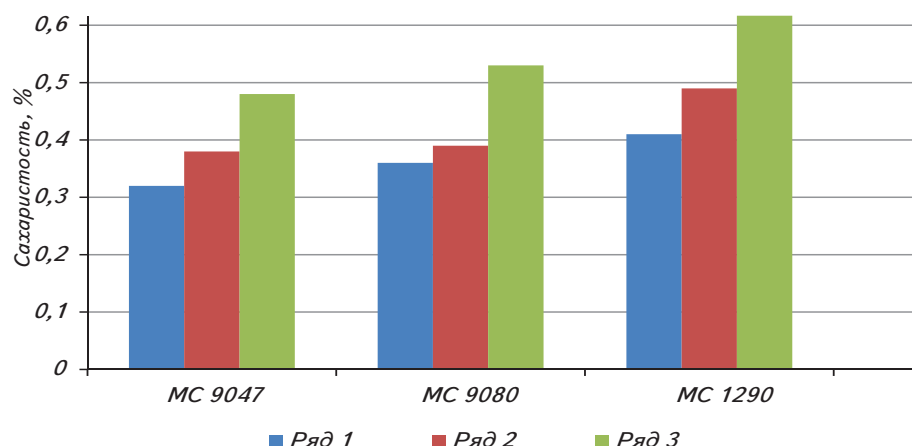


Рис. 4. Средние показатели сахаристости у регенерантов в культуре *in vitro*, %: ряд 1 – контроль; ряд 2 – концентрация мелатонина 100 мкМ; ряд 3 – концентрация мелатонина 500 мкМ

syringae pv. tomato DC3000 у *Arabidopsis thaliana* / Н. Zhao, L. Xu, T. Su [et al.] // J. Pineal Res. – 2015 b. – Vol. 59. – P. 109–119.

5. Мелатонин усиливает регенерацию корней, фотосинтетические пигменты, биомассу, общее количество углеводов и содержание пролина в подвое вишни PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*) / В. Сарропулу, К. Димасси-Териу, И. Териос, М. Кукурику-Петриду // Biochem. – 2012. – Vol. 61. – P. 162–168.

6. Ихун, Ч. Эволюция и экспрессия семейства генов фруктокиназы в сахаре / Ч. Ихун, Ч. Цин, Х. Вэйчан [и др.] // Genomics. – 2017. – Vol. 18 BMC. – P. 197.

7. Kanayama, Y. Divergent fructokinase genes are differentially expressed in tomato / Y. Kanayama, N. Dai, D. Granot [et al.] // Plant Physiol. – 2003. – No. 113. – P. 1379–1384.

8. Kanayama, Y. Фруктокиназы томатов проявляют дифференциальную экспрессию и регуляцию субстрата / Y. Kanayama, D. Granot, N. Dai [et al.] // Plant Physiol. – 2002. – No. 117. – P. 85–90.

9. Jiang, H. Isolation and characterization of two fructo-

kinase cDNA clones from rice / H. Jiang, W. Dian, F. Liu, P. Wu // Phytochemistry. – 2003. – No 62. – P. 47–52.

10. Davies, H.V. Модуляция фруктокиназной активности картофеля (*Solanum tuberosum*) приводит к существенным сдвигам в метаболизме клубней / H. Davies, L.V. Shepherd, M.M. Burrell [et al.] // Физиология растительных клеток. – 2005. – Vol. 46. – P. 1103–1115.

11. Ренц, А. Субстратная специфичность и ингибирование продуктов различных форм фруктокиназ и гексокиназ в развивающихся клубнях картофеля / А. Ренц, М. Ститт // Planta. – 2003. – Vol. 190. – P. 166–175.

12. Пэнфэй, Ч. Благоприятное влияние экзогенного мелатонина на преодоление солевого стресса у сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) / Ч. Пэнфэй, L. Lei, В. Синь [и др.] // Plants. – 2021. – No 10. – P. 886.

**Аннотация.** Проведён сравнительный анализ влияния мелатонина на микроклоны *Beta vulgaris* L. Исследование показало повышение уровня сахаров в листьях растений сахарной свёклы. В опытах были применены разные концентрации мелатонина, оптимальной оказалась концентрация 1000 мкМ. Изучается механизм действия мелатонина на углеводный обмен в целях управления процессом накопления сахаров.

**Ключевые слова:** сахарная свёкла, *in vitro*, мелатонин, микроклоны, тепличные условия, сахаристость, концентрации.

**Summary.** A comparative analysis of melatonin influence on microclones of *Beta vulgaris* L. has been conducted. The investigation has shown a level increase of sugars in leaves of sugar beet plants. Different melatonin concentrations have been analyzed, the concentration of 1000 mkm has turned to be optimal. The mechanism of melatonin effect on carbohydrate exchange is studied with the aim to control sugars' accumulation process.

**Keywords:** sugarbeet, *in vitro*, melatonin, microclones, greenhouse conditions, sugar content, concentration.