

УЧАСТИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА JIN1/MYC2 В ИНДУЦИРОВАНИИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА ДЕЙСТВИЕМ ЭКЗОГЕННОГО СЕРОВОДОРОДА

Т.О. ЯСТРЕБ^{1,1}, Ю.Е. КОЛУПАЕВ^{1,2,1}, Е.Н. ГАВВА^{1,1}, Е.И. ГОРЕЛОВА^{1,1}, А.П. ДМИТРИЕВ^{3,2}

¹ Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, 62483, Харьков, Украина

² Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, площадь Свободы, 4, 61022, Харьков, Украина

³ Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, ул. Академика Заболотного, 148, 03143, Киев, Украина

E-mail: plant_biology@ukr.net¹, dmitriev.ap@gmail.com²

Транскрипционный фактор JIN1/MYC2, считающийся ключевым в жасмонатном сигналинге, участвует также в трансдукции сигналов абсцизовой кислоты и, вероятно, в реализации эффектов других посредников, задействованных в формировании адаптивных реакций растений. С использованием мутантов арабидопсиса jin1 исследовали его возможное участие в реализации протекторных эффектов сероводорода (H₂S) при солевом стрессе. Обработка растений арабидопсиса дикого типа (Col-0) донором сероводорода (50 мкМ NaHS) вызывала повышение их солеустойчивости, что выражалось в снижении окислительных повреждений, уменьшении водного дефицита и сохранении пула фотосинтетических пигментов при действии 150 мМ NaCl. Также обработка растений Col-0 NaHS предотвращала вызываемое стрессом снижение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, способствовала повышению активности гваяколпероксидазы. Кроме того, у растений дикого типа, обработанных донором H₂S, содержание пролина в листьях после солевого стресса было ниже, а сахаров выше, чем у необработанных. Обработка мутантов jin1 не способствовала повышению их солеустойчивости и не оказывала заметного влияния на функционирование изученных протекторных систем. Полученные результаты позволяют предполагать участие транскрипционного фактора JIN1/MYC2 в реализации эффектов сероводорода и/или посредников его сигнальных путей, задействованных в формировании адаптивных реакций растений на солевой стресс.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, сероводород, транскрипционный фактор JIN1/MYC2, солеустойчивость, антиоксидантные ферменты, совместимые осмолиты.

Введение. Сероводород (H₂S) в настоящее время рассматривается в качестве одной из ключевых сигнальных молекул в клетках растений [1]. На-

ряду с активными формами кислорода (АФК) и монооксидом азота (NO) [2–4], он участвует в формировании адаптивных реакций растений на действие стрессоров различной природы, в том числе засоления [5]. На ряде объектов показана роль сероводорода в регуляции ионного гомеостаза в клетках растений при солевом стрессе [6–8]. Другой возможной составляющей положительного влияния сероводорода на солеустойчивость растений может быть активация антиоксидантной системы [9]. Есть сведения и об усилении под действием H₂S накопления осмолитов клетками растений при солевом стрессе [10].

Однако вопрос о механизмах индуцирования сероводородом реакций, обеспечивающих повышение солеустойчивости растений, остается открытым. В частности, не ясно, какие компоненты сигнальной и гормональной систем задействованы в этом процессе. В то же время имеются данные, указывающие на функциональные связи H₂S с такими ключевыми стрессовыми фитогормонами, как абсцизовая (АБК) и жасмоновая (ЖАК) кислоты. Например, показана роль сероводорода как посредника при индуцировании устойчивости растений к засухе действием АБК [11]. Получены сведения о повышении эндогенного содержания сероводорода у растений арабидопсиса и проса под влиянием экзогенных ЖАК и метилжасмоната [12, 13]. Индуцируемое метилжасмонатом повышение устойчивости растений к токсическому действию кадмия было опосредовано сероводородом и устранялось обработкой растений ингибитором его синтеза гидроксиламином [13]. С другой стороны, в реализации стресс-протекторного действия самого сероводорода участвуют другие известные сигнальные посредники – кальций, АФК и ок-

© Т.О. ЯСТРЕБ, Ю.Е. КОЛУПАЕВ, Е.Н. ГАВВА, Е.И. ГОРЕЛОВА, А.П. ДМИТРИЕВ, 2020

сид азота [14–16]. Показано, что NO важен для развития индуцированной донором сероводорода солеустойчивости. Так, положительное влияние донора сероводорода NaHS на солеустойчивость растений люцерны и экспрессию генов антиоксидантных ферментов подавлялось их обработкой скевенджером оксида азота 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide (PTIO) [17].

Одним из ключевых белков, участвующих в сигналинге ЖАК и АБК в растительных клетках, является транскрипционный фактор (ТФ) JIN1/MYC2 [18, 19]. В настоящее время этот белок рассматривается в качестве одного из «узлов» в регуляции экспрессии генов, обеспечивающих адаптивный ответ растительных клеток. Ранее нами с использованием мутантов арабидопсиса *jin1* было показано участие ТФ JIN1/MYC2 в процессах индуцирования солеустойчивости растений действием донора оксида азота [20]. С учетом сведений о функциональных связях между H₂S и NO [14, 15, 17] и роли ТФ JIN1/MYC2 в сети стрессового сигналинга [18, 19], можно предположить, что этот белок может быть причастен и к реализации физиологического действия сероводорода. Однако его возможное участие в трансдукции сигнала H₂S до сих пор оставалось неизученным.

В связи с изложенным, целью работы было сопоставление влияния донора сероводорода NaHS на функционирование защитных систем растений арабидопсиса дикого типа (*Col-0*) и мутантов *jin1* при солевом стрессе.

Материалы и методы. В экспериментах использовали четырехнедельные растения *Arabidopsis thaliana* L. дикого типа (*Col-0*) и мутантных линий *jin1*, дефектных по гену *JIN1*, кодирующему белок транскрипционный фактор MYC2/JIN1. Семена растений *jin1* были любезно предоставлены проф. Ж.-М. Нейгаузом (Университет Нашатель, Швейцария). Растения выращивали в водной культуре на среде Хогланда с модификациями [21] при температуре 24/18 °С (день/ночь), освещении 6000 лк и фотопериоде 10/14 ч (день/ночь) [20]. Донор H₂S гидросульфид натрия вносили в питательную среду и инкубировали на ней растения в течение 24 ч. После этого их переносили на питательную смесь без гидросульфида натрия,

но с добавлением 150 мМ NaCl. После 24-часовой инкубации растений в присутствии хлорида натрия среду заменяли на обычную.

Фотосинтетические пигменты экстрагировали из листьев этанолом и определяли их содержание спектрофотометрическим методом [22].

Количество продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ, в основном, малоновый диальдегид – МДА), определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [23].

Активность антиоксидантных ферментов определяли по методикам, описанным ранее [20]. Навески листьев гомогенизировали на холоде в 0,15 М К,Na-фосфатном буфере (рН 7,6), содержащем ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотрейтол (1 мМ). Для анализа использовали супернатант после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 10 мин при 4 °С. Активность супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) определяли при рН 7,6, используя метод, основанный на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметосульфата. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) анализировали при рН 7,0 по количеству разложившегося пероксида водорода за единицу времени. Активность гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли, используя в качестве донора водорода гваякол, в качестве субстрата – пероксид водорода.

Содержание пролина в листьях анализировали по методу Bates и соавт. [24]. Суммарное содержание сахаров в растительном материале определяли с использованием антронового реактива [25] с модификациями [26].

Водный дефицит листьев определяли по методике [27] и выражали в процентах от общего содержания воды в состоянии полного насыщения.

Все биохимические показатели, кроме содержания фотосинтетических пигментов, а также величину водного дефицита определяли в розеточных листьях сразу после воздействия солевого стресса. Количество хлорофиллов и каротиноидов в листьях анализировали через двое суток после переноса растений на среду без NaCl [20].

Опыты проводили в трехкратной биологической повторности. На рисунках и в таблице

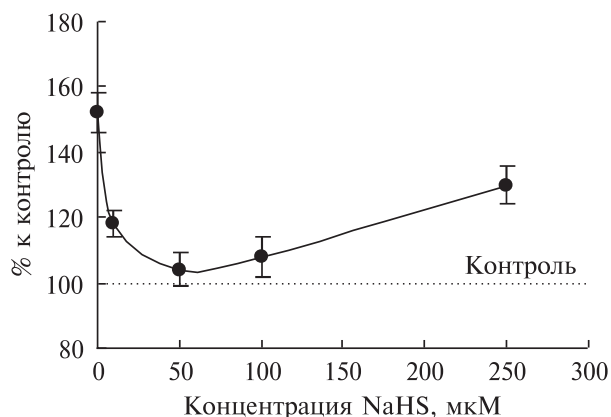


Рис. 1. Концентрационная зависимость влияния донора сероводорода NaHS на содержание МДА (% к контролю) в листьях растений арабидопсиса (Col-0) после воздействия солевого стресса (24-часовая экспозиция на среде с добавлением 150 мМ NaCl)

приведены средние величины и их стандартные ошибки. Кроме специально оговоренных случаев, обсуждаются различия, достоверные при $P \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение.

Добавление донора сероводорода NaHS в концентрациях диапазона 10–100 мкМ в питательную среду повышало устойчивость растений арабидопсиса дикого типа к солевому стрессу, что выражалось в уменьшении окислительных повреждений (рис. 1). Так, количество продукта ПОЛ МДА в листьях растений, необработанных NaHS, через сутки после инкубации на среде, содержащей NaCl, повышалось приблизительно в 1,5 раза, в то время как в варианте с предварительным воздействием на растения 50 мкМ гидросульфида натрия оно практически не изменялось. Несколь-

ко меньший защитный эффект проявлялся при использовании 10 и 100 мкМ NaHS, а более высокие концентрации донора сероводорода не предотвращали развитие ПОЛ (рис. 1).

Под влиянием солевого стресса у растений снижалось содержание хлорофиллов и каротиноидов (таблица). Предварительная инкубация растений на среде с добавлением 50 и 100 мкМ NaHS смягчала негативное влияние солевого стресса на содержание хлорофиллов. Донор сероводорода в концентрации 50 мкМ также способствовал сохранению пула каротионидов в листьях в стрессовых условиях (таблица).

Таким образом, при солевом стрессе наиболее заметный защитный эффект, проявлявшийся в уменьшении окислительных повреждений и сохранении пула фотосинтетических пигментов у растений дикого типа, донор сероводорода оказывал в концентрации 50 мкМ. Именно эту концентрацию NaHS использовали в последующих экспериментах.

В условиях солевого стресса активность СОД в листьях растений обоих генотипов существенно снижалась (рис. 2, а). Предынкубация растений на среде с донором сероводорода способствовала сохранению более высокой активности фермента у растений дикого типа, но не влияла на этот показатель у растений *jin1*.

Активность каталазы, как и активность СОД, после 24-часового воздействия NaCl снижалась у обоих исследуемых генотипов (рис. 2, б). В то же время у растений дикого типа в варианте с предобработкой NaHS она сохранялась на уровне контроля. У мутантов *jin1* подобного эффекта не наблюдалось: в варианте с донором сероводорода активность фермента при солевом

Концентрационная зависимость влияния донора сероводорода NaHS на содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений арабидопсиса (Col-0) после воздействия солевого стресса

Вариант	Общее содержание хлорофиллов, мг/сухого вещества	Содержание каротиноидов, мг/г сухого вещества
Контроль	13,9 ± 0,2	1,31 ± 0,03
NaCl (150 мМ)	11,3 ± 0,3	0,82 ± 0,05
NaCl (150 мМ) + NaHS (10 мкМ)	11,8 ± 0,3	0,93 ± 0,03
NaCl (150 мМ) + NaHS (50 мкМ)	12,9 ± 0,2	1,16 ± 0,04
NaCl (150 мМ) + NaHS (100 мкМ)	12,8 ± 0,4	0,97 ± 0,03
NaCl (150 мМ) + NaHS (250 мкМ)	11,6 ± 0,3	0,94 ± 0,07

стрессе была существенно ниже бесстрессового контроля.

Активность гваяколпероксидазы в контроле у растений дикого типа была заметно выше, чем у мутантов *jin1* (рис. 2, в). В ответ на солевой стресс она увеличивалась у растений Col-0 и практически не изменялась у генотипа *jin1*. Предварительная инкубация на среде с донором сероводорода способствовала дополнительному повышению активности фермента у растений дикого типа при солевом стрессе. В то же время у растений *jin1* под влиянием донора H₂S активность гваяколпероксидазы не изменялась (рис. 2, в).

Содержание пролина в листьях у растений дикого типа в ответ на солевой стресс увеличивалось приблизительно в 2,2 раза (рис. 3, а). У мутантов *jin1* его количество при солевом стрессе также повышалось, однако слабее, чем у растений дикого типа. Предобработка NaHS уменьшала индуцируемое солевым стрессом накопление пролина в листьях растений дикого типа (рис. 3, а). В то же время у мутантов *jin1* такого эффекта не наблюдалось.

Содержание сахаров в листьях у растений дикого типа при солевом стрессе немного повышалось (рис. 3, б). Обработка донором сероводорода вызвала существенное увеличение их количества у растений Col-0 при солевом стрессе. В то же время у мутантов *jin1* содержание сахаров в листьях при солевом стрессе заметно снижалось, а воздействие NaHS не влияло на этот показатель.

Как уже отмечалось, предобработка растений дикого типа NaHS в концентрации 50 мкМ предотвращала вызываемое солевым стрессом снижение содержания хлорофиллов и каротиноидов (таблица), в то же время у мутантов *jin1* такого эффекта не проявлялось (рис. 4).

Не предотвращала обработка мутантов *jin1* донором H₂S и развитие ПОЛ при солевом стрессе. Так, через 24 ч после начала действия 150 мМ NaCl содержание МДА в варианте без обработки гидросульфидом натрия у этих растений повышалось относительно контроля на 35,7 ± 0,9 %, а в варианте с предобработкой 50 мкМ NaHS – на 32,8 ± 1,2 %. В то же время, как отмечалось выше, у растений дикого типа обработка 50 мкМ донором сероводорода почти полностью предотвращала вызываемое

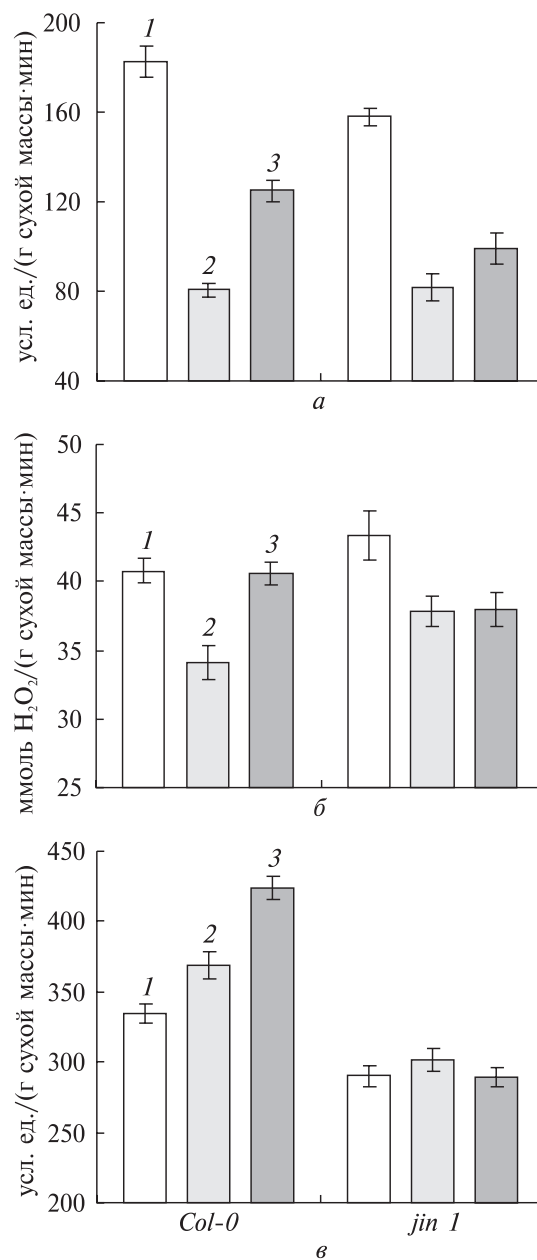


Рис. 2. Активность СОД (а), каталазы (б) и гваяколпероксидазы (в) в листьях растений арабидопсиса. 1 – контроль; 2 – NaCl (150 мМ); 3 – NaCl (150 мМ) + NaHS (50 мкМ)

мое солевым стрессом увеличение количества МДА (рис. 1).

Влияние донора сероводорода на проявление эффекта водного дефицита у растений двух генотипов при солевом стрессе также отличалось: обработка NaHS снижала величину

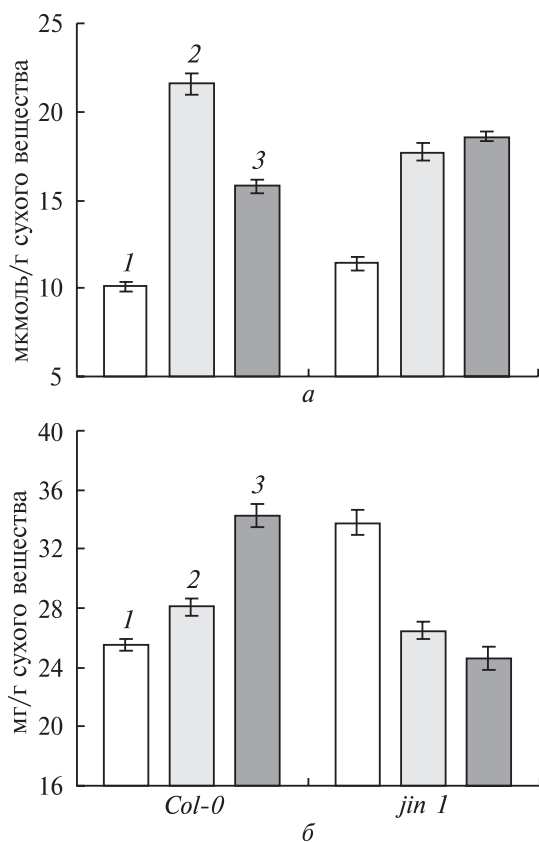


Рис. 3. Содержание пролина (а) и сахаров (б) в листьях растений арабидопсиса. 1 – контроль; 2 – NaCl (150 мМ); 3 – NaCl (150 мМ) + NaHS (50 мкМ)

водного дефицита у растений дикого типа, но не у мутантов *jin1* (рис. 5).

Таким образом, в целом положительное влияние донора сероводорода на солеустойчивость четко проявлялось только у растений дикого типа. Одной из важных его составляющих, по-видимому, является стабилизация активности антиоксидантных ферментов в стрессовых условиях (рис. 2). Полученные нами результаты согласуются с описанными в работе (Shi et al., 2015), в которой у растений арабидопсиса дикого типа (*Col-0*) под влиянием донора сероводорода NaHS показано повышение активности СОД, каталазы, неспецифической пероксидазы и глутатиоредуктазы, а также увеличение редокс-статуса глутатиона при длительном действии солевого стресса в почвенной культуре. В целом, повышение активности антиоксидантных ферментов под влиянием экзогенного сероводорода зарегистриро-

вано на разных объектах и на фоне действия стрессоров различной природы. Так, у растений огурца при солевом стрессе обработка донором сероводорода вызывала повышение активности СОД, каталазы, гваяколпероксидазы и аскорбатпероксидазы [28]. Под влиянием NaHS в условиях осмотического стресса, вызываемого ПЭГ 6000, отмечалось увеличение активности СОД у растений пшеницы и риса [11, 29]. Участие сероводорода в регуляции экспрессии генов, контролирующих редокс-гомеостаз, в том числе СОД, показано молекулярно-генетическими методами в работе Li и соавт. [30].

Известно, что значительную роль в устойчивости растений к солевому стрессу играют совместимые осмолиты, в частности, пролин [31]. Однако в наших экспериментах в условиях солевого стресса у растений дикого типа, обработанных NaHS, содержание пролина было ниже, чем у необработанных (рис. 3, а). Возможно, это связано с более эффективным функционированием под влиянием экзогенного сероводорода других составляющих защитной системы, в частности ферментативных антиоксидантов (рис. 2). В литературе имеются сведения, указывающие на функциональную взаимозаменяемость антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных протекторов. Так, при исследовании реакции на засоление ряда дикорастущих видов растений была установлена реципрокная взаимосвязь между изменением активности СОД и содержанием пролина [32]. С другой стороны, в наших экспериментах при солевом стрессе у растений дикого типа, обработанных донором сероводорода, при меньшем количестве пролина отмечалось более высокое содержание сахаров (рис. 3, б). Сахара могут вносить определенный вклад не только в поддержание осмотического давления, но и в антиоксидантную защиту клеток, поскольку обладают способностью связывать радикальные АФК [33]. В связи с этим можно предполагать функциональную взаимозаменяемость пролина и сахаров как осмолитов и антиоксидантов у растений в условиях солевого стресса.

Более эффективное функционирование осмопротекторной системы у растений арабидопсиса дикого типа при действии донора сероводорода, по-видимому, способствовало умень-

шению вызываемого солевым стрессом водного дефицита (рис. 5). Другая составляющая позитивного влияния сероводорода на водный режим может быть связана с его участием в регуляции состояния устьиц [34, 35].

В целом, обработка донором сероводорода повышала солеустойчивость растений арабидопсиса дикого типа, что отражалось на таких интегральных показателях как уровень ПОЛ (рис. 1) и содержание фотосинтетических пигментов (рис. 4). В то же время у мутантов *jin1* донор H_2S не оказывал заметного влияния на активность антиоксидантных ферментов, содержание осмолитов, а также на количество продуктов ПОЛ, содержание пигментов и величину водного дефицита при солевом стрессе.

Обнаруженное в наших экспериментах отсутствие влияния экзогенного H_2S на функционирование изучаемых протекторных систем у растений *jin1* дает основания предполагать участие ТФ JIN1/MYC2 в реализации физиологических эффектов сероводорода. Безусловно, полученные результаты не дают ответа на вопрос о механизмах влияния сигнала сероводорода на этот транскрипционный фактор. Не исключено, что оно является опосредованным и связано с изменением под влиянием H_2S содержания других сигнальных и, возможно, гормональных посредников. Как уже отмечалось, имеются сведения о способности сероводорода изменять гомеостаз оксида азота [14]. В связи с этим можно предположить, что, по крайней мере, одним из вероятных механизмов реализации эффектов сероводорода может быть повышение под его влиянием содержания оксида азота в клетках. Действие NO на экспрессию генов, обеспечивающих стресс-протекторные реакции, в свою очередь, может происходить с участием белка JIN1/MYC2 [20, 36]. Примечательно, что феноменология влияния донора сероводорода NaHS и донора NO нитропрусида натрия на физиологические показатели растений арабидопсиса дикого типа при солевом стрессе в наших экспериментах была сходной. Донор NO, как и донор H_2S , стабилизировал активность антиоксидантных ферментов, снижал содержание пролина, но повышал количество сахаров в листьях [20]. При этом у растений дикого типа под влиянием экзогенного оксида азота, как и сероводо-

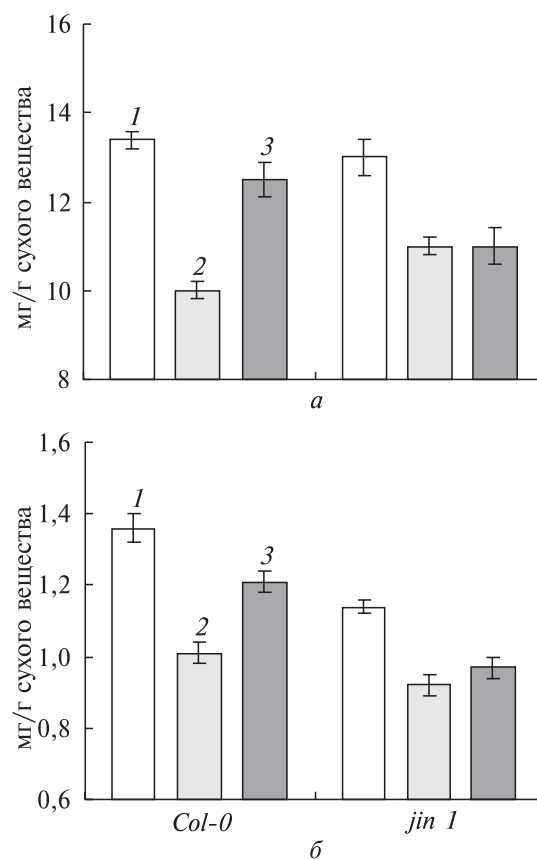


Рис. 4. Содержание хлорофиллов (а) и каротиноидов (б) в листьях растений арабидопсиса. 1 – контроль; 2 – NaCl (150 мМ); 3 – NaCl (150 мМ) + NaHS (50 мкМ)

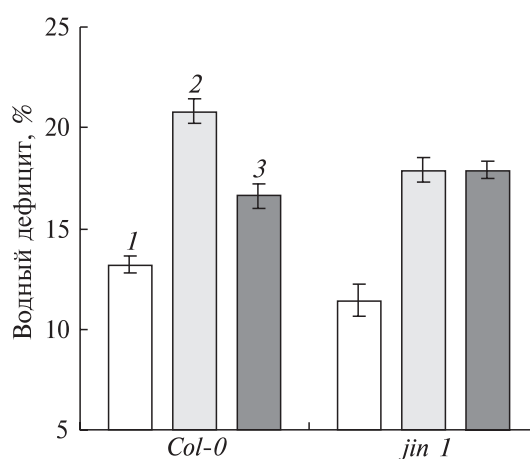


Рис. 5. Водный дефицит (%) листьев растений арабидопсиса. 1 – контроль; 2 – NaCl (150 мМ); 3 – NaCl (150 мМ) + NaHS (50 мкМ)

рода, уменьшались вызываемые солевым стрессом деградация фотосинтетических пигментов и процесс ПОЛ. Однако донор NO не влиял на указанные показатели у мутантов *jin1* [20].

Обсуждая другие возможные механизмы участия ТФ JIN1/MYC2 в реализации эффектов экзогенного H₂S, следует отметить, что они могут быть опосредованы и его влиянием на содержание стрессовых фитогормонов, в частности, АБК [37], в передаче сигналов которой также задействован белок JIN1/MYC2 [18].

Безусловно, выяснение механизмов участия белка JIN1/MYC2 в реализации физиологических эффектов сероводорода требует специальных исследований содержания в клетках других сигнальных посредников (в первую очередь, NO), а также гормонального статуса растений. Тем не менее, полученные результаты дают основания полагать, что в реализации H₂S-индуцируемых сигналов, которые способствуют повышению солеустойчивости, задействован транскрипционный фактор JIN1/MYC2.

Соответствие этическим стандартам. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта «Роль сигнальных посредников и соединений с гормональной активностью в формировании адаптивных реакций растений на абиотические стрессоры», финансируемого за счет средств государственного бюджета (№ регистрации 0117U002427).

PARTICIPATION OF THE JIN1/MYC2 TRANSCRIPTION FACTOR IN THE INDUCTION OF SALT RESISTANCE OF ARABIDOPSIS PLANTS BY THE ACTION OF EXOGENOUS HYDROGEN SULFIDE

T.O. Yastreba, Yu.E. Kolupaev,
E.N. Havva, E.I. Horielova, A.P. Dmitriev

Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University,
p/o Dokuchaevske-2, 62483, Kharkiv, Ukraine
Karazin Kharkiv National University, Svoboda Square,
4, 61022, Kharkiv, Ukraine
Institute of Cell Biology and Genetic Engineering,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

Academician Zabolotny St., 148, 03143, Kyiv, Ukraine
E-mail: plant_biology@ukr.net, dmitriev.ap@gmail.com

The transcription factor JIN1/MYC2, considered key in jasmonate signaling, is also involved in the transduction of signals from abscisic acid and, probably, effects of other mediators involved in formation of adaptive responses of plants. Using *jin1* mutants of Arabidopsis, its possible participation in the implementation of hydrogen sulfide (H₂S) protective effects under salt stress was investigated. Treatment of wild-type (Col-0) Arabidopsis plants with the hydrogen sulfide donor (50 μM NaHS) caused an increase in their salt resistance, reflecting in the decrease in oxidative damage, the decrease in water deficiency, and the maintenance of pool of photosynthetic pigments under the action of 150 mM NaCl. Also, the treatment of Col-0 plants with NaHS prevented a stress-induced decrease in the activity of antioxidant enzymes — superoxide dismutase and catalase — and contributed to an increase in the activity of guaiacol peroxidase. In addition, in wild-type plants treated with the H₂S donor, the content of proline in the leaves after salt stress was lower, and the sugars were higher than in untreated ones. Treatment of *jin1* mutants did not contribute to an increase in their salt resistance and did not have a noticeable effect on the functioning of the protective systems studied. The results obtained suggest the involvement of the JIN1/MYC2 transcription factor in the implementation of the hydrogen sulfide effects and/or intermediaries of its signaling pathways involved in the formation of adaptive responses of plants to salt stress.

УЧАСТЬ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА JIN1/MYC2 В ІНДУКУВАННІ СОЛЕСТІЙКОСТІ РОСЛИН АРАБІДОПСИСУ ДІЄЮ ЕКЗОГЕННОГО ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ

Т.О. Ястреб, Ю.Є. Колупаєв,
К.М. Гавва, О.І. Горелова, О.П. Дмитрієв

Транскрипційний фактор JIN1/MYC2, що вважається ключовим в жасмонатному сигналінгу, бере участь також в трансдукції сигналів абсцизової кислоти і, ймовірно, реалізації ефектів інших посередників, задіяних у формуванні адаптивних реакцій рослин. З використанням мутантів арабідопсису *jin1* досліджували його можливу участь у реалізації протекторних ефектів Гідроген сульфід (H₂S) при сольовому стресі. Обробка рослин арабідопсису дикого типу (Col-0) донором Гідроген сульфід (50 мкМ NaHS) викликала підвищення їх солестійкості, що виявлялося у зниженні окиснювальних пошкоджень, зменшенні водного дефіциту і збереженні пулу фотосинтетичних пігментів за дії 150 мМ NaCl. Також обробка рослин Col-0 NaHS запобігала спричинюваному стресом зниженню активності антиокси-

дантних ферментів – супероксиддисмутази і каталази та сприяла підвищенню активності гваяколпероксидази. Крім того, у рослин дикого типу, оброблених донором H₂S, вміст проліну в листках після сольового стресу був нижчим, а цукрів вищим, ніж у необроблених. Обробка мутантів *jin1* не сприяла підвищенню їх солестійкості і помітно не впливала на функціонування досліджуваних протекторних систем. Отримані результати дозволяють припускати участь транскрипційного фактора JIN1/MYC2 у реалізації ефектів Гідроген сульфїду та/або посередників його сигнальних шляхів, задіяних у формуванні адаптивних реакцій рослин на сольовий стрес.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Filipovic, M.R., Jovanovic V.M., More than just an intermediate: hydrogen sulfide signalling in plants. *J. Exp. Bot.*, 2017, vol. 68, no. 17, pp. 4733–6. doi: 10.1093/jxb/erx352.
- Krasylenko, Y.A., Yemets, A.I., and Blume, Y.B., Functional role of nitric oxide in plants. *Russ J. Plant Physiol.*, 2010, vol. 57, no. 4, pp. 451–61. doi: 10.1134/S1021443710040011.
- Khan, M.N., Mohammad, F., Mobin, M., and Ali Saqib, M., Tolerance of plants to abiotic stress: a role of nitric oxide and calcium. In: *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology* (ed. M. Khan et al.), Switzerland: Springer International Publishing, 2014, pp. 225–42. doi: 10.1007/978-3-319-06710-0_14.
- Kolupaev, Yu.E., Karpets, Yu.V., and Dmitriev, A.P., Signal mediators in plants in response to abiotic stress: calcium, reactive oxygen and nitrogen species. *Cytol. Genet.*, 2015, vol. 49, no. 5, pp. 338–48. doi: org/10.3103/S0095452715050047.
- da-Silva, C.J. and Modolo, L.V., Hydrogen sulfide: a new endogenous player in an old mechanism of plant tolerance to high salinity. *Acta Bot. Brasil.*, 2018, vol. 32, no. 1, pp. 150–60. doi: 10.1590/0102-33062017abb0229.
- Christou A., Manganaris, G.A., Papadopoulos, I., and Fotopoulos, V. Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defence pathways. *J. Exp. Bot.*, 2013, vol. 64, no. 7, pp. 1953–66. doi: 10.1093/jxb/ert055.
- Chen, J., Wang, W.H., Wu, F.H., He, E.M., Liu, X., Shangguan, Z.P., and Zheng, H.L., Hydrogen sulfide enhances salt tolerance through nitric oxide-mediated maintenance of ion homeostasis in barley seedling roots. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, 12516. doi: 10.1038/srep12516.
- Deng, Y.Q., Bao, J., Yuan, F., Liang, X., Feng, Z.T., and Wang, B.S., Exogenous hydrogen sulfide alleviates salt stress in wheat seedlings by decreasing NaCl content. *Plant Growth Regul.*, 2016, vol. 79, no. 3, pp. 391–9. doi: 10.1007/s10725-015-0143-x.
- Shi, H., Ye, T., Han, N., Bian, H., Liu, X., and Chan, Z.J., Hydrogen sulfide regulates abiotic stress tolerance and biotic stress resistance in Arabidopsis. *Integr. Plant Biol.*, 2015, Vol. 57, no. 7, pp. 628–40. doi: 10.1111/jipb.12302.
- Shi, H., Ye, T., and Chan, Z., Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). *Plant Physiol. Biochem.*, 2013, vol. 71, pp. 226–34. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.07.021.
- Ma, D., Ding, H., Wang, C., Qin, H., Han, Q., Hou, J., Lu, H., Xie, Y., and Guo T., Alleviation of drought stress by hydrogen sulfide is partially related to the abscisic acid signaling pathway in wheat. *PLoS One*, 2016, vol. 11, e0163082. doi: 10.1371/journal.pone.0163082.
- Shan, C., Wang, T., Zhou, Y., and Wang, W., Hydrogen sulfide is involved in the regulation of ascorbate and glutathione, one metabolism by jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Plant.*, 2018, vol. 62, no. 1, pp. 188–93. doi: org/10.1007/s10535-017-0740-9.
- Tian, B., Zhang, Y., Jin, Z., Liu, Z., and Pei, Y., Role of hydrogen sulfide in the methyl jasmonate response to cadmium stress in foxtail millet. *Front. Biosci. (Landmark Ed.)*, 2017, Vol. 22, pp. 530–8.
- Singh, V.P., Singh, S., Kumar, J., and Prasad, S.M., Hydrogen sulfide alleviates toxic effects of arsenate in pea seedlings through up-regulation of the ascorbate-glutathione cycle: possible involvement of nitric oxide. *J. Plant Physiol.*, 2015, vol. 181, pp. 20–9. doi: org/10.1016/j.jplph.2015.03.015.
- da-Silva, C.J., Mollica, D.C.F., Vicente, M.H., Peres, L.E.P., and Modolo, L.V., NO, hydrogen sulfide does not come first during tomato response to high salinity. *Nitric Oxide*, 2018, vol. 76, pp. 164–73. doi: 10.1016/j.niox.2017.09.008.
- Kolupaev, Yu.E., Firsova, E.N., Yastreb, T.O., and Lugovaya A.A., The participation of calcium ions and reactive oxygen species in the induction of anti-oxidant enzymes and heat resistance in plant cells by hydrogen sulfide donor. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2017, vol. 53, no. 5, pp. 573–9. doi: org/10.1134/S0003683817050088.
- Wang, Y., Li, L., Cui, W., Xu, S., Shen, W., and Wang, R., Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant Soil*, 2012, vol. 351, no. 1–2, pp. 107–19. doi: org/10.1007/s11104-011-0936-2.
- Ton, J., Flors, V., and Mauch-Mani, B., The multifaceted role of ABA in disease resistance, *Trends Plant Sci.*, 2009, vol. 14, no. 6, pp. 310–7. doi: 10.1016/j.tplants.2009.03.006.
- Guo, J., Pang, Q., Wang, L., Yu, P., Li, N., and Yan,

- X., Proteomic identification of MYC2-dependent jasmonate-regulated proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Proteome Sci.*, 2012, vol. 10, no. 1, 57. doi: 10.1186/1477-5956-10-5.
20. Yastreb, T.O., Kolupaev, Yu.E., Karpets, Yu.V., and Dmitriev, A.P., Effect of nitric oxide donor on salt resistance of *Arabidopsis jin1* mutants and wild-type plants. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2017, vol. 64, no. 2, pp. 207–14. doi: org/10.1134/S1021443717010186.
21. Gibeaut, D.M., Hulett, J., Cramer, G.R., and Seemann, J.R., Maximal biomass of *Arabidopsis thaliana* using a simple, low-maintenance hydroponic method and favorable environmental conditions. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 115, no. 2, pp. 317–9. doi: org/10.1104/pp.115.2.317.
22. Shlyk A.A., Determination of chlorophylls and carotenoids in extracts of green leaves. In: *Biochemical Methods in Plant Physiology* (ed. Pavlinova O.A.), Moscow: Nauka, 1971, pp. 154–70.
23. Fazlieva, E.R., Kiseleva, I.S., and Zhuikova, T.V., Antioxidant activity in the leaves of *Melilotus albus* and *Trifolium medium* from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2012, vol. 59, no. 3, pp. 333–8. doi: org/10.1134/S1021443712030065.
24. Bates, L.S., Walden, R.P., and Tear, G.D., Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 1973, vol. 39, no. 1, pp. 205–10. doi: org/10.1007/BF00018060.
25. Zhao, K., Fan, H., Zhou, S., and Song, J., Study on the salt and drought tolerance of *Suaeda salsa* and *Kalanchoe clavigremontiana* under iso-osmotic salt and water stress. *Plant Sci.*, 2003, vol. 165, no. 4, pp. 837–44. doi: org/10.1016/S0168-9452(03)00282-6.
26. Yastreb, T.O., Kolupaev, Yu.E., Lugovaya, A.A., and Dmitriev, A.P., Content of osmolytes and flavonoids under salt stress in *Arabidopsis thaliana* plants defective in jasmonate signaling. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2016, vol. 52, no. 2, pp. 210–5. doi: org/10.1134/S0003683816020186.
27. Goncharova E.A., *Water Status of Cultivated Plants and its Diagnostics*, St. Petersburg: VIR, 2005, 112 p.
28. Yu, L., Zhang, C., Shang H., Wang, X., Wei, M., Yang, F., and Shi, Q., Exogenous hydrogen sulfide enhanced antioxidant capacity, amylase activities and salt tolerance of cucumber hypocotyls and radicles. *J. Integr. Agricult.*, 2013, vol. 12, no. 3, pp. 445–56. doi: org/10.1016/S2095-3119(13)60245-2.
29. Liu, J., Zhang, H., Yin, Y., and Chen, H., Effects of exogenous hydrogen sulfide on antioxidant metabolism of rice seed germinated under drought stress. *J. Southern Agricult.*, 2017, vol. 48, no. 1, pp. 31–7.
30. Li, H., Li, M., Wei, X., Zhang, X., Xue, R., Zhao, Y., and Zhao, H., Transcriptome analysis of drought-responsive genes regulated by hydrogen sulfide in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Mol. Genet. Genomics*, 2017, vol. 292, no. 5, pp. 1091–110. doi 10.1007/s00438-017-1330-4.
31. Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K., and Becker, D.F., Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Signal.*, 2013, vol. 19, no. 9, pp. 998–1011. doi: 10.1089/ars.2012.5074.
32. Kartashov, A.V., Radyukina, N.L., Ivanov, Yu.V., Pashkovskii, P.P., Shevyakova, N.I., and Kuznetsov, V.I.V., Role of antioxidant systems in wild plant adaptation to salt stress. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2008, vol. 55, no. 4, pp. 463–8. doi:org/10.1134/S10214-43708040055
33. Ramel, F., Sulmon, C., Bogard, M., Couée, I., and Gouesbet, G., Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* plantlets. *BMC Plant Biol.*, 2009, vol. 9, pp. 28. doi: 10.1186/1471-2229-9-28.
34. Hu, K.D., Tang, J., Zhao, D.L., Hu, L.Y., Li, Y.H., Liu, Y.S., Jones, R. and Zhang, H., Stomatal closure in sweet potato leaves induced by sulfur dioxide involves H₂S and NO signaling pathways. *Biol. Plant.*, 2014, vol. 58, no. 4, pp. 676–80. doi: org/10.1007/s10535-014-0440-7.
35. Honda, K., Yamada, N., Yoshida, R., Ihara, H., Sawa, T., Akaike, T., and Iwai, S., 8-Mercapto-Cyclic GMP mediates hydrogen sulfide-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.*, 2015, vol. 56, no. 8, pp. 1481–9. doi: 10.1093/pcp/pcv069.
36. Palmieri, M.C., Sell, S., Huang, X., Scherf, M., Werner, T., Durner, J., and Lindermayr, C., Nitric oxide-responsive genes and promoters in *Arabidopsis thaliana*: a bioinformatics approach. *J. Exp. Bot.*, 2008, vol. 59, no. 2, pp. 177–86. doi: 10.1093/jxb/erm345.
37. He, M., He, C.-Q., and Ding, N.-Z. Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, 1771. doi: 10.3389/fpls.2018.01771.

Поступила в редакцию 08.08.19

После доработки 06.10.19

Принята к публикации 18.03.20