

**ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА
НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ
2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО
КОМПЛЕКСА КУКУРУЗЫ (*ZEA MAYS* L.)**

Г. Б. Анохина, Л. С. Картавцева, Я. И. Дедов, П. С. Оя, А. Т. Епринцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 14.03.2019 г.

Аннотация. Растительные организмы нередко подвергаются влиянию абиотических стрессовых факторов, в том числе и засолению. Большое внимание уделяется действию солей аммония на физиологические процессы растений, однако недостаточно хорошо исследовано влияние засоления, вызванного хлоридом натрия. Солевой стресс оказывает значительное влияние на растение, как на уровне целого организма, так и на уровне отдельных его клеток. Отдельный интерес представляют собой изменения в работе цикла трикарбоновых кислот, который занимает центральное место в углеводном метаболизме. В ходе работы исследовано влияние солевого стресса, вызванного хлоридом натрия на работу 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса (2-ОГДК, КФ 1.2.4.2) в зеленых листьях кукурузы (*Zea mays* L.), как участника углеводного и азотного метаболизма. 2ОГДК представляет собой сложно регулируемую систему, которая, обеспечивая трёх стадийное окисление 2-оксоглутарата с образованием сукцинил-СоА, осуществляет контроль всего процесса дыхания. Полученные данные по динамике активности 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса из листьев кукурузы в условиях действия солевого стресса позволили оценить изменение скорости функционирования исследуемого фермента в стрессовых условиях. Установлено, что повышенная концентрация хлорида натрия вызывает увеличение общей ферментативной активности 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса в листьях кукурузы. 2ОГДК, в связи с особенностями строения, в геноме кукурузы кодируется восьмью генами: *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3*, *dlst-1*, *dlst-2*, *dlst-3*, *dld-1*, *dld-2*. На основе нуклеотидных последовательностей, представленных в международной базе данных NCBI, были разработаны специфические праймеры, которые позволили оценить уровень транскрипционной активности генов 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса в условиях солевого стресса. При анализе транскрипционной активности генов, кодирующих данный ферментный комплекс, установлено изменение уровня транскриптов исследуемых генов в условиях действия солевого стресса, что может говорить о генетической регуляции работы ферментов при стресс-индуцируемом воздействии. Изучение экспрессии позволило выявить неоднородность в работе генов *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3*, *dlst-1*, *dlst-2*, *dlst-3*, *dld-1*, *dld-2* при ответе растительного организма на действие стрессора. Анализ транскрипционной активности генов, кодирующих ферменты 2ОГДК, позволил установить стимулирующий эффект солевого стресса на функционирование 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса в листьях кукурузы.

Ключевые слова: 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс, 2-оксоглутаратдегидрогеназа, липоамидсукцинилтрансфераза, липоамиддегидрогеназа, солевой стресс, *Zea mays*, экспрессия, ПЦР, ферментативная активность.

Засоление почвенного покрова оказывает значительное влияние на физиологические и биохимические процессы, протекающие в растительном организме [1]. Наряду с нарушением водного обмена, отмечается изменение транспорта ионов кальция; в связи с низкой интенсивностью фото-

синтеза происходит снижение накопления общей биомассы, подвергается изменению интенсивность дыхания [2, 3, 4]. Следует отметить, что засоление способно вызывать как индукцию дыхательного процесса, так и угнетение [5]. Данный эффект связан в том числе с видовыми и сортовыми различиями растений [6]. В результате засоления происходит нарушение в работе митохондриального аппарата клетки [7, 8]. Ферментативная

активность в условиях повышения концентрации солей, соответственно, также подвергается изменениям [9]. Так, известно, что солевой стресс индуцирует работу сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1) – маркерного митохондриального фермента, участника ЦТК и ЭТЦ [10]. Цикл трикарбоновых кислот играет доминирующую роль в энергизации клетки, а также в синтезе важных клеточных интермедиатов. Особое место в ЦТК занимает 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс (2ОГДК, КФ 1.2.4.2) – сложная мультиферментная система, осуществляющая процесс окислительного декарбоксилирования 2-оксоглутарата (α -кетоглутарат, 2ОГ, α КГ), завершающийся образованием сукцинил-СоА [11]. Трехстадийный процесс окисления 2ОГ до сукцинил-СоА обеспечивается посредством работы трех независимых ферментов: 2-оксоглутаратдегидрогеназы (2-ОГДГ, E1, КФ 1.2.4.2.); дигидролипоамидсукцинилтрансферазы (ДЛСТ, E2, КФ 2.3.1.61); дегидролипоамиддегидрогеназы (ДЛД, E3, КФ 1.8.1.4.). До недавнего времени считалось, что 2ОГДК имеет только митохондриальную локализацию, однако, недавние исследования показали, что данный мультиферментный комплекс локализован также и в ядре [12].

Известно, что 2ОГДК участвует не только в углеводном обмене, регулируя ЦТК и фактически ограничивая интенсивность процесса дыхания, но и является участником азотного обмена [13,14,15]. Помимо этого, исследуемый комплекс участвует в процессе сукцинирования ДНК [12]. Известно, что в некоторых случаях 2ОГДК участвует в реакциях стрессового ответа [16]. В связи с этим, целью данной работы являлось исследование влияния солевого стресса на функционирование 2-оксоглутаратдегидрогеназного ферментного комплекса в листьях кукурузы.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовались 12 дневные проростки кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Воронежская 76, выращенные гидропонно при 10 часовом световом дне с интенсивностью света 25 Вт/м² при температуре окружающей среды 25°C.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Постановка эксперимента по действию солевого стресса осуществлялась путём помещения растений из опытной группы, с предварительно удаленной корневой системой, в 150 мМ водный

раствор хлорида натрия (NaCl) на 24 часа. В качестве контрольной группы использовались растения, помещённые в воду на 24 часа. У данной группы корневая система также предварительно удалялась. Первые образцы для исследования отбирались до начала инкубации (нулевой образец) из обеих групп растений. Далее образцы изымались через 1, 2, 3, 4 часа, 6, 8, 12, 18 часов, 22 и 24 часа от начала эксперимента.

Выделение митохондриальной фракции. Навеску растительного материала растирали в керамической ступке со средой выделения (0,15 М калий-фосфатный буфер (pH 7.4); 0.4 М сахароза; 2.5 мМ ЭДТА; 1 мМ хлорид калия; 4 мМ хлорид магния) в соотношении 1:10. Гомогенат фильтровали и центрифугировали 3 минуты при 3000 об/мин на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5804 R при температуре +4°C. Супернатант центрифугировали 10 минут при 20000 об/мин ($t = +4^\circ\text{C}$). Надосадочную жидкость удаляли, а осадок растворяли в 0.15 М калий-фосфатном буфере (pH 7.4) с растворенной в нем сахарозой (0.25 М), MgCl₂, ТДФ. Полученную суспензию митохондрий использовали для определения активности 2-ОГДГ спектрофотометрическим методом.

Определение активности 2-ОГДК. Активность 2-ОГДК определяли по скорости образования NADH в реакционной смеси, содержащей следующие компоненты: 100 мМ фосфатного буфера, pH 7.4; 0.25 мМ 2-оксоглутарата калия, 0.1 мМ СоА, 0.5 мМ NAD⁺; 1 мМ ТДФ; 0.1 мМ CaCl₂; 20 мМ 2-меркаптоэтанола [17].

Выделение РНК. Выделение тотальной РНК из растительных образцов осуществляли методом гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформной экстракции [18]. Обратную транскрипцию мРНК проводили с использованием обратной транскриптазы MMLV (“Евроген”, Россия) согласно инструкции производителя. Подбор праймеров осуществлялся на основе нуклеотидных последовательностей, представленных в международной базе GeneBank, с помощью программы Primer-BLAST (табл. 1). Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием специфичных праймеров на приборе LightCycler96 (Roche, Швеция), используя SybrGreen I в качестве интеркалирующего красителя. Количество матрицы контролировали с помощью параллельной амплификации фактора элонгации ef-1 α с ген-специфичными праймерами [19]. Относительный уровень экспрессии исследуемых генов осуществляли с применением 2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} -метода [20].

Опыты проводили в 3-4 кратной повторности, аналитические определения для каждой пробы осуществляли в трех повторностях. Полученные данные обрабатывали с использованием критерия Стьюдента [21] и программы Excel. Различия считались достоверными при $p < 0.05$. На графиках приведены средние арифметические значения полученных величин и их стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования общей ферментативной активности 2ОГДК было установлено, что солевой стресс оказывает стимулирующий эффект: общая активность исследуемого ферментного комплекса увеличивается уже спустя час после инкубации в растворе хлорида натрия почти в три раза в сравнении с контрольной группой растений, где общая ферментативная активность оставалась на постоянном уровне (Рис.1). Максимальные значения общей ферментативной активности 2ОГДК отмечены на 2 час инкубации. В следующие часы эксперимента наблюдалось постепенное снижение общей активности ферментного комплекса. По истечении 12 часов активность 2ОГДК имела значения, характерные для контрольной группы растений.

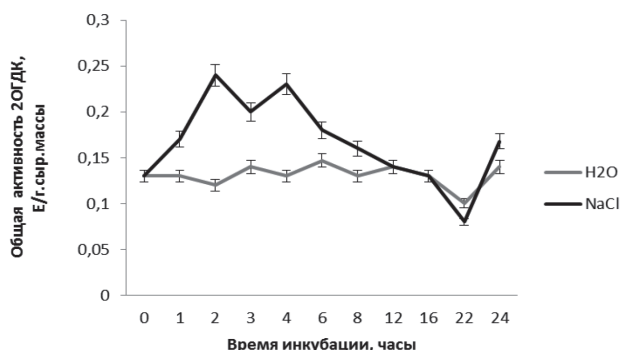


Рис. 1. Общая ферментативная активность 2ОГДК (Е/г.с.м.) при действии солевого стресса. Черная линия – инкубация в NaCl; серая линия – инкубация в H₂O

В связи с тем, что 2-ОГДК обеспечивает образование сукцинил-СоА путём слаженной работы трёх ферментов, для каждого из которых характерен полиморфизм генов, по нашему мнению, необходимым является исследование роли каждого гена в адаптивном механизме растения при действии солевого стресса. По нашему мнению, интересным является исследование уровня экспрессии генов, кодирующих ферменты 2-ОГДК, как способа регуляции активности всего комплекса.

В геноме кукурузы 2ОГДК представлен восьмью генами. Первый компонент 2-ОГДК – 2 оксоглутаратдегидрогеназа кукурузы *Zea mays* L. кодируется тремя генами, расположенными на разных хромосомах: *ogdh-1* (LOC100383579, Gene ID: 100383579) *ogdh-2* (LOC103639200, Gene ID: 103639200), *ogdh-3* (TIDP3354, Gene ID: 100383847). Следует отметить, что все три гена расположены на разных хромосомах. У кукурузы белок дигидролипоамидсукцинилтрансфераза кодируется также несколькими генами, которые расположены на разных хромосомах: ген *dlst-1* (LOC100280624, Gene ID: 100280624), *dlst-2* (LOC100284269, Gene ID: 100284269; *dlst-3* (LOC100285796, Gene ID: 100285796). Третий компонент 2-ОГДК – дегидролипоамиддегидрогеназа кодируют два гена: *dld-1* (LOC103650140, Gene ID: 103650140), *dld-2* (LOC100501719, Gene ID: 100501719).

Исследование уровня транскриптов генов, кодирующих ферменты 2ОГДК, показало, что солевой стресс действует, стимулируя экспрессию генов ОГДГ в первые часы инкубации: начиная с первого часа воздействия хлорида натрия отмечается рост уровня транскриптов генов *ogdh-1*, *ogdh-2* и *ogdh-3* по сравнению с контрольными образцами (рис. 2-4). Для гена *ogdh-1* максимальная концентрация мРНК отмечена на 2 час проведения эксперимента. Для генов *ogdh-2* и *ogdh-3* – на третий час инкубации. В дальнейшем отмечалось снижение транскрипционной активности для всех исследуемых генов, что в целом коррелирует с результатами, полученными в ходе исследования ферментативной активности 2ОГДК.

Анализ транскрипционной активности генов, кодирующих второй компонент 2ОГДК, показал, что для гена *dlst-1* также наблюдалось увеличение уровня транскриптов в первые часы (максимум на второй час инкубации) (Рис.5). Однако, для гена

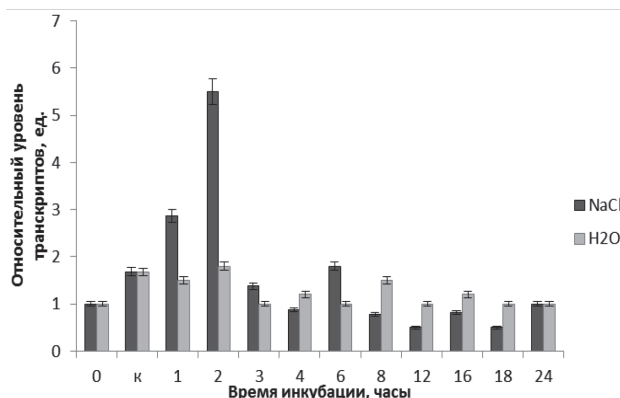


Рис. 2. Относительный уровень транскриптов гена *ogdh1* при действии солевого стресса

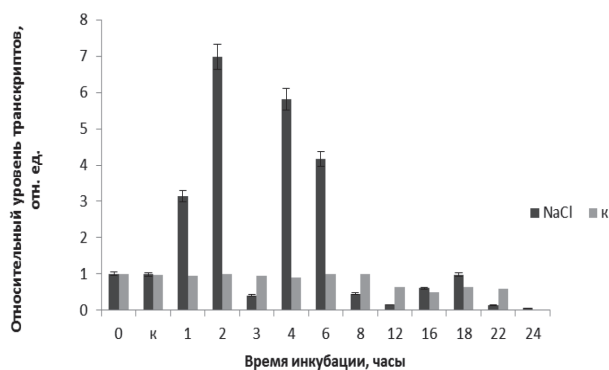


Рис. 3. Относительный уровень транскриптов гена *ogdh2* при действии солевого стресса

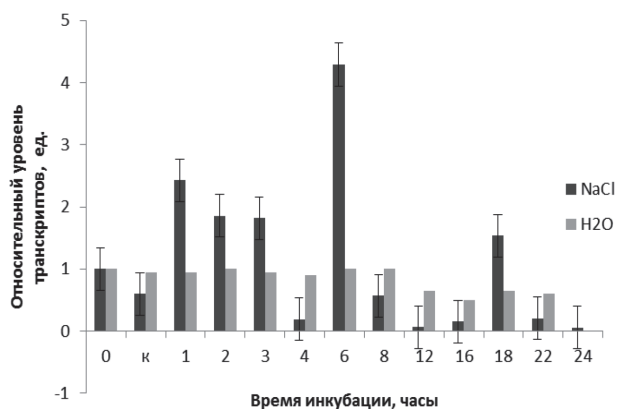


Рис. 4. Относительный уровень транскриптов гена *ogdh3* при действии солевого стресса

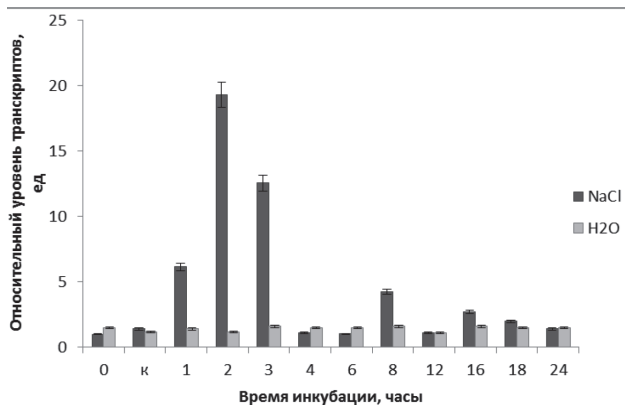


Рис. 5. Относительный уровень транскриптов гена *dlst1* при действии солевого стресса
dlst-2, несмотря на незначительное увеличение концентрации мРНК в первый час действия солевого стресса, было характерно падение уровня транскриптов ниже контрольных значений, как и для гена *dlst-3*, для которого увеличение транскрипционной активности не было отмечено в течение всего времени эксперимента - относительный уровень транскриптов практически не изменялся на протяжении всего времени эксперимента.

Для гена *dld-1* липоамиддегидрогеназы установлено увеличение уровня транскриптов в пер-

вые часы солевого стресса. Максимум отмечен на восьмой час инкубации. Ген *dld-2* также демонстрировал рост концентрации мРНК в начале эксперимента, однако максимум зарегистрирован в первый час действия хлорида натрия (рис. 6-7). Далее экспрессионная активность исследуемого гена начала снижаться.

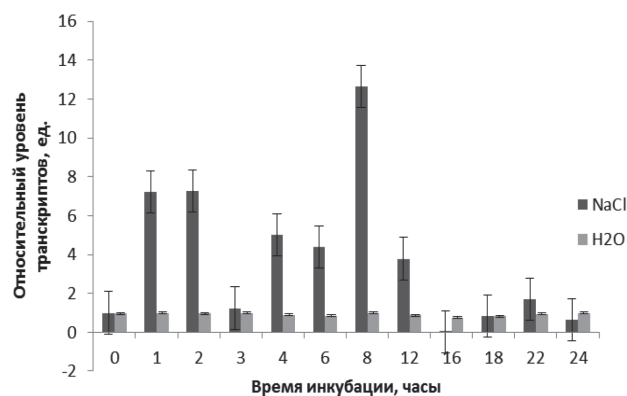


Рис. 6. Относительный уровень транскриптов гена *dld-1* при действии солевого стресса

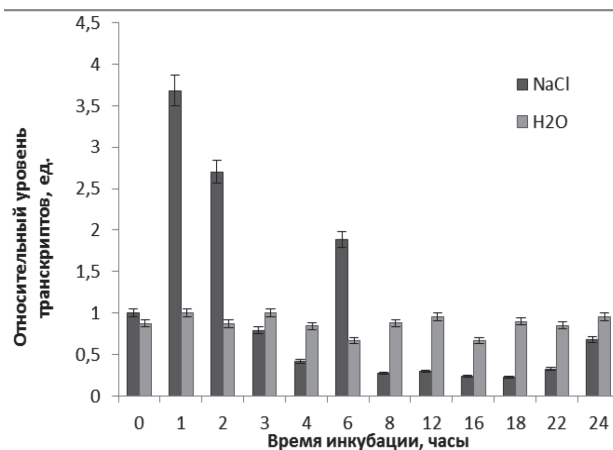


Рис. 7. Относительный уровень транскриптов гена *dld-2* при действии солевого стресса

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования влияния солевого стресса на функционирование 2ОГДК в листьях кукурузы установлено стимулирующее действие хлорида натрия в первые часы эксперимента, что говорит о попытке растительного организма компенсировать негативное влияние соли за счет интенсификации ЦТК. Анализ уровня транскриптов генов, кодирующих ферменты 2ОГДК, выявил корреляцию с полученными данными изменения ферментативной активности, что говорит о генетической регуляции адаптивного механизма к данному стрессовому фактору. Стоит отметить, что гены, кодирующие второй компонент 2ОГДК – дегидро-липоамидсукцинилтрансферазу, по-разному ре-

Таблица 1.

Олигонуклеотиды для генов ферментов 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность	Температура отжига, °С
<i>ogdh-1</i>	Прямой	5'-ATTCCAATGACCGTGACAGG-3'	59
	Обратный	5'-AAAAATCGGCGCATCCAATG-3'	
<i>ogdh-2</i>	Прямой	5'-CAAAGCCAAACTGCTACTGC-3'	61
	Обратный	5'-TTTTCACTCCGATGTGGTGG-3'	
<i>ogdh-3</i>	Прямой	5'-GAAGCCATGACTACTCTGCC-3'	61
	Обратный	5'-GCTCCGCATCTTGGTTCATA-3'	
<i>dlst-1</i>	Прямой	5'-TCTGAGCTGAGGATACCGAG-3'	61
	Обратный	5'-AGCAGCTCTATTGCTCTTGC-3'	
<i>dlst-2</i>	Прямой	5'-AAAGAAAGCAACTGAGGGGG-3'	60
	Обратный	5'-GAAGAAGACAGCCTCTCTGC-3'	
<i>dlst-3</i>	Прямой	5'-TCATTGCTAGTGAAGGCGAC-3'	61
	Обратный	5'-GGTTCTGAAGGGGACGTTTT-3'	
<i>dld-1</i>	Прямой	5'-CTACCGTGAGTGAAGCCCTC-3'	60
	Обратный	5'-CAAGGAAGCACAAAACCCCG-3'	
<i>dld-2</i>	Прямой	5'-TCCATCCAAGGCTCTTCTGC-3'	60
	Обратный	5'-TGGGAGGTCCACTTCCAGAT-3'	

агируют на действие солевого стресса: ген *dlst-1* демонстрирует транскрипционный ответ сходный с суммарным ответом всего комплекса – значения относительного уровня транскриптов гена увеличиваются в первые часы действия стрессора, в последующем снижаясь до контрольных значений. Для гена *dlst-2* отмечено ингибирующее действие хлорида натрия. Практически никаких существенных изменений солевой стресс не вызывает в работе гена *dlst-3*.

Таким образом, установлено, что солевой стресс оказывает стимулирующее действие на работу двух компонентов 2ОГДК: 2-оксоглутаратдегидрогеназы и липоамиддегидрогеназы, что подтверждается исследованиями транскрипционной активности генов, кодирующих данные белки. Следует отметить, что оба белка относят к оксидоредуктазам. Разнородный характер действия солевого стресса показан для второго компонента 2ОГДК – ДЛСТ. Все три гена по-разному реагируют на солевой стресс. Аналогичный стимулирующий эффект солевого стресса показан и для сукцинатдегидрогеназы [10].

Стресс-индуцированные изменения функционирования отдельных ферментов исследуемого комплекса в листьях кукурузы под действием засоления заключаются в значительном увеличении их активности. В качестве механизма адаптации к действию солевого стресса растительный организм интенсифицирует функционирование ЦТК, что необходимо для дополнительного поступления энергии.

Работа выполнена при финансовой поддержке госзадания Минобрнауки РФ №6.6927.2017/8.9

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алехина Н. Д., Балнокин Ю. В., Гавриленко В. Ф., Жигалова, Т. В., Ермаков И. П. Физиология растений. Издательский центр Академия Москва, 2007. 640 с.
2. Будаговская Н.В. Нарушения процессов роста и транспорта воды в растениях при засолении и блокировании кальциевых каналов // Всероссийский симпозиум «Растение и стресс», Москва, 2010 : тез. докл. 2010. С. 70-71.
3. Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Фрике В. Накопление АБК и устойчивость ростовых процессов на фоне засоления у разных сортов ячменя // Всероссийский симпозиум «Растение и стресс» (Plants under Environmental Stress) 09-12 ноября 2010. : тез. докл. – 2010. - С.85-86.
4. Касумов Н. А. О механизме действия экстремального засоления среды на растения // К изучению резистентности растений при экстремальных воздействиях среды (Сборник научных трудов). Баку, 1982. С. 46-49.
5. Климачев Д.А., Кузнецова С.А., Старикова В.Т. Изменение интенсивности дыхания растений в условиях солевого стресса // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2011. № 1. с. 30-33.
6. Иванова Т.И., Юдина О.С. Дыхательный газообмен некоторых представителей галофитной

флоры Араратской долины // Физиология растений. 1992. т. 39. В. 5. С. 996-1001.

7. Горис И.Я. Дыхание и фосфорный обмен семян, прорастающих в условиях разнокачественного засоления / Автореф. диссерт...кандидата биологических наук. Владивосток, 1967.

8. Аббасова З.И., Касумов Н.А. Активность митохондрий у различных по солеустойчивости растений в норме и при действии солей // Физиологические и биохимические основы солеустойчивости растений, тезисы докладов IV Всесоюзного симпозиума. Ташкент, 17-19 сентября 1986 г.

9. Трухина Ю.О. Влияние солевого стресса на основные физиолого-биохимические параметры растений картофеля/ Ю.О.Трухина, Р.Шайбе, А.Т. Епринцев // Вестн. Воронеж. ун-та. Серия: Химия. Биология. 2000. №2 . С.138-143.

10. Лопырева Г.Б. Влияние абиотических факторов на активность сукцинатдегидрогеназы в проростках *Zea mays* L./ Г.Б. Лопырева, Н.В. Селиванова // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов : межрегиональный сборник научных работ. Воронеж, 2016. Вып. 18. С. 91-95.

11. Frank R.A., Price A.J., Northrop F.D., Perham R.N., Luisi B.F. Crystal structure of the E1 component of the *Escherichia coli* 2-oxoglutarate dehydrogenase multienzyme complex// *Journal of Molecular Biology*. 2007. V. 368. P. 639–651.

12. Wang Y., Guo Y.R., Liu K., Yin Z., Liu R., Xia Y., Tan L., Yang P., Lee J.H., Li X.J., Hawke D., Zheng Y., Qian X., Lyu J., He J., Xing D., Tao Y.J., Lu Z. KAT2A coupled with the alpha-KGDH complex acts as a histone H3 succinyltransferase // *Nature*. 2017. V. 552. P. 273–277.

13. Araujo W.L., Nunes-Nesi A., Trenkamp S., Bunik V.I., Fernie A.R. Inhibition of 2-oxoglutarate

dehydrogenase in potato tuber suggests the enzyme is limiting for respiration and confirms its importance in nitrogen assimilation // *Plant Physiol*. 2008. V. 148. P. 1782–1796.

14. Vidal E.A., Gutierrez R.A. A systems view of nitrogen nutrient and metabolite responses in *Arabidopsis* // *Curr. Opin. Plant Biol*. 2008. V. 11. P. 521–529.

15. Bunik V.I., Fernie A.R. Metabolic control exerted by the 2-oxoglutarate dehydrogenase reaction: a cross-kingdom comparison of the crossroad between energy production and nitrogen assimilation// *Biochem. J*. 2009. V. 422. №3. P. 405–421.

16. Graf A., Trofimova L., Loshinskaja A., Mkrtychyan G., Strokina A., Lovat M., Tylicky A., Strumilo S., Bettendorff L., Bunik V.I. Up-regulation of 2-oxoglutarate dehydrogenase as a stress response // *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2013. V. 45. P. 175–189.

17. Stanley C.J., Perham R.N. Purification of 2-oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes from ox heart by a new method // *Biochem. J*. 1980. V. 191. P. 147-154.

18. Chomczynski P., Sacchi N. Singlestep-method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem*. 1987. V. 162. P. 156–159.

19. Nicot N., Hausman J.F., Hoffmann L., Evers D. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress // *J. Exp. Bot*. 2005. V. 56. P. 2907–2914.

20. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ Ct method // *Methods*. 2001. V. 25. P. 402–408.

21. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк. 1990. 351 с.

Воронежский государственный университет
Анохина Г. Б., аспирант кафедры биохимии и физиологии клетки
E-mail: dowi2009@mail.ru

Картавецова Л. С., магистр кафедры биохимии и физиологии клетки

Дедов Я. И., Студент кафедры биохимии и физиологии клетки

Оя П. С., Студент кафедры биохимии и физиологии клетки

Voronezh State University
Anohina G. B., post-graduate student of Biochemistry and Cell Physiology Department
E-mail: dowi2009@mail.ru

Kartavtseva L. S., Master of Biochemistry and Cell Physiology Department

Dedov Y. I., Student of Biochemistry and Cell Physiology Department

Oya P. S., Student of Biochemistry and Cell Physiology Department

Епринцев А. Т., профессор, доктор биологических наук, заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки

E-mail: bc366@bio.vsu.ru

Eprintsev A. T., PhD., DSci., Full Professor, head of the Biochemistry and Cell Physiology Department,

E-mail: bc366@bio.vsu.ru

INFLUENCE OF SALT STRESS ON FUNCTIONING 2- OXOGLUTARATE DEHYDROGENASE COMPLEX OF MAIZE (*ZEAMAYS L.*)

G. B. Anokhina, L. S. Kartavtseva, Ya. I. Dedov, P. S. Oya, A. T. Eprintsev

Voronezh State University

Annotation. Plant organisms are often exposed to abiotic stress factors, including salinization. Much attention is paid to the effect of ammonium salts on the physiological processes of plants, but the effect of salinity caused by sodium chloride is not well understood. In this research was investigated the effect of salt stress caused by sodium chloride on the work of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex (2-OGDC, EC 1.2.4.2) in green leaves of corn (*Zea mays L.*) as a participant in carbohydrate and nitrogen metabolism. OGDC is a complexly regulated system that provides three-step oxidation of 2-oxoglutarate to form succinyl-CoA and limits the respiration process. The obtained data on the dynamics of activity of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex from maize leaves under the action of salt stress allowed us to establish changes in the rate of functioning of the this enzymes complex under stress conditions. It has been established that an increased concentration of sodium chloride leads to an increase in the total enzymatic activity of the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex in maize leaves. OGDC in the maize genome is encoded by ascending genes: *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3*, *dlst-1*, *dlst-2*, *dlst-3*, *dld-1*, *dld-2*. Specific primers were created on the basis of nucleotide sequences presented in the international NCBI database, which allowed the level of transcriptional activity of the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex genes under salt stress. Analysis of the transcriptional activity of genes encoding 2-OGDC helped to establish changes in the level of gene transcripts under conditions of salt stress, which may indicate genetic regulation of the enzymes during stress-induced effects. The investigation of genes expression revealed heterogeneity in the work of genes *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3*, *dlst-1*, *dlst-2*, *dlst-3*, *dld-1*, *dld-2* in the response of a plant organism to the action of a stressor. An analysis of the transcriptional activity of the genes encoding the 2-OGDC enzymes has made it possible to establish the stimulating effect of salt stress on the functioning of the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex in maize leaves.

Keywords: 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, 2-oxoglutarate dehydrogenase, α -ketoglutarate dehydrogenase complex, dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase, dihydrolipoamide dehydrogenase, salt stress, *Zea mays*, expression, PCR, activity of enzyme.

REFERENCES

1. Alekhina N. D., Balnokin Yu.V., Gavrilenko V.F., Zhigalova, T. V., Ermakov I. P. Plant physiology. Academy Publishing Center Moscow, 2007. 640 p.
2. Budagovskaya N.V. "Disorders of the growth and transport of water in plants during salinization and blocking of calcium channels". The All-Russian Symposium "Plant and Stress", 2010, Moscow, P. 70-71.
3. Veselov DS, Sharipova G.V., Fricke V. "Accumulation of ABA and stability of growth processes against the background of salinity in different varieties of barley". All-Russian Symposium "Plant and Stress" (Plants under Environmental Stress) 9-12 November, 2010, Moscow, P.85-86.
4. N. Kasumov. "On the Mechanism of the Effect of Extreme Salinization of the Medium on Plants".

On the Study of Plant Resistance under Extreme Environmental Exposures (Collection of Scientific Works). 1982, Baku, p. 46-49.

5. Klimachev D.A., Kuznetsova S.A., Starikova V.T. Changes in the intensity of plant respiration under salt stress conditions // Bulletin of Moscow State Regional University. Series: Natural Sciences. 2011, No. 1, p. 30-33.

6. Ivanova T.I., Yudina O.S. Respiratory gas exchange of some representatives of the halophytic flora of the Ararat Valley, Plant Physiology. 1992, Vol. 39, No. 5, p. 996-1001.

7. Goris I. Ya. Respiration and phosphorus exchange of seeds germinating under conditions of different-quality salinization // Diss. cand. Biol. nauk. Vladivostok, 1967.

8. Abbasova Z.I., Kasumov N.A. The activity of mitochondria in plants of different salt tolerance in normal conditions and under the action of salts // *Physiological and biochemical bases of plant salt tolerance*, abstracts of the IV All-Union Symposium. 17-19 September, 1986, Tashkent, p. 144
9. Trukhina, Yu.O., Saibe R., Eprintsev A.T. Influence of salt stress on the main physiological and biochemical parameters of potato plants, *Vestn. Voronezh.un-ta.Ser.Chem., Biology*, 2000, No 2, P.138-143.
10. Lopyreva G.B. The influence of abiotic factors on the activity of succinate dehydrogenase in seedlings of *Zea mays* L. / G. B. Lopyreva, N.V. Selivanova // *Organization and regulation of physiological and biochemical processes: interregional collection of scientific works*. Voronezh, 2016, Vol. 18, p. 91-95.
11. Frank R.A., Price A.J., Northrop F.D., Perham R.N., Luisi B.F. Crystal structure of the E1 component of the *Escherichia coli* 2-oxoglutarate dehydrogenase multienzyme complex, *Journal of Molecular Biology*, 2007, Vol. 368, P. 639–651.
12. Wang Y., Guo YR, Liu K., Yin Z., Liu R., Xia Y., Tan L., Yang P., Lee JH, Li XJ, Hawke D., Zheng Y., Qian X., Lyu, J., He, J., Xing, D., Tao, YJ, Lu, Z. KAT2A, succinyltransferase complex, as Nature Histone H3 succinyltransferase, *Nature*, 2017, Vol. 552, P. 273–277.
13. Araujo, W.L., Nunes-Nesi, A., Trenkamp, S., Bunik V.I., Fernie A.R. Inhibition of 2-oxoglutarate dehydrogenase in the potato tuber suggests that it should be used as a rule, *Plant Physiol.*, 2008, Vol. 148, P. 1782-1796.
14. Vidal E.A., Gutierrez R.A. A systems view of arabic acid metabolite responses in *Arabidopsis*, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2008, Vol. 11, P. 521–529.
15. Bunik V.I., Fernie A.R. Metabolic control exerted by the 2-oxoglutarate dehydrogenase reaction, *Biochem. J.*, 2009, Vol. 422, P. 405-421.
16. Graf A., Trofimova L., Loshinskaja A., Mkrtychyan G., Strokina A., Lovat M., Tylicky A., Strumilo S., Bettendorff L., Bunik V.I. Up-regulation of 2-oxoglutarate dehydrogenase as a stress response, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2013, Vol. 45, P. 175–189.
17. Stanley C.J., Perham R.N. Purification of 2-oxo-acid-o-dehydrogenase complexes by a new method, *Biochem. J.*, 1980, Vol. 191, P. 147-154.
18. Chomczynski P., Sacchi N. Singlestep-method of RNA isolation by guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction, *Anal. Biochem*, 1987, Vol. 162, P. 156-159.
19. Nicot N., Hausman J.F., Hoffmann L., Evers D. RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress, *J. Exp. Bot.*, 2005, Vol. 56, P. 2907–2914.
20. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of the relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_t$ method, *Methods*, 2001, Vol. 25, P. 402–408.
21. Lakin G.F. *Biometrics*. М.: High School, 1990, 351 p.