СТАТЬИ

УДК 57.045

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР ПРИ ЗАСУХЕ

Ибрагимова З.Ш., Меджидова Г.С., Гасанова Г.И., Абдуллаева Л.С., Алиев Р.Т.

Институт генетических ресурсов, НАНА, Баку, e-mail: ziyade.ibrahimova@gmail.com

В работе использованы образцы пяти разновидностей мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.): var. *delphi* k-79, var. *erythrospermum* k-10, var. *hostianum* k-50, var. *albidum* k-25, var. *velutinum* к-30 и 3 сорта ячменя: Pallidum 596, Polongi и Flor. Выращенные в условиях фитотрона при температуре 20–21 °C, влажности 60–70 %, 16-часовом фотопериоде, освещенности 10000 люкс, пятидневные проростки в течение 24 ч подъвергались воздействию умеренной и сильной засухи (14 атм и 20 атм). В проростках определяли активность гваякол-пероксидазы и содержание пролина в листьях. Значительное повышение активности пероксидазы под влиянием стресса умеренной интенсивности (14 атм) в проростках исследуемых образцов пшеницы и ячменя сопровождалось небольшим увеличением содержания аминокислоты пролина. При высоких дозах стресса активность ферментативной защитной системы значительно снижалась, а низкомолекулярная антиоксидантная система активировалась, увеличиваясь в разы. На основании этих данных можно утверждать, что во время засухи происходит взаимодействие ферментативных и низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы защиты в тканях растительного организма, т.е. можно говорить о наличии реципрокных отношений.

Ключевые слова: мягкая пшеница, ячмень, стресс, засуха, пролин, пероксидаза

INTERACTION OF COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN CEREALS DURING DROUGHT

Ibragimova Z.Sh., Medzhidova G.S., Gasanova G.I., Abdullaeva L.S., Aliev R.T.

Institute of Genetic Resources, ANAS, Baku, e-mail: ziyade.ibrahimova@gmail.com

The paper uses samples of 5 varieties of soft wheat (T. aestivum L.): var. delphi k-79, var. erythrospermum k-10, var. hostianum k-50, var. albidum k-25, var. velutinum κ -30 and 3 varieties of barley: Pallidum 596, Polongi, Flor. Grown under phytotron conditions (20–21 °C, 60% humidity, 16/8-hour photoperiod, 10000 Lux of light). 5-day seedlings were exposed to moderate and high doses of drought for 24 hours (sucrose solution of 14 and 20 atm). The activity of guaiacol peroxidase and the content of proline were determined in the seedlings. A significant increase in the activity of the peroxidase enzyme under the influence of stress on the average intensity (14atm) in the seedlings of the studied samples of wheat and barley was accompanied by a small increase in the number of Proline amino acids. While, at high doses of stress, the activity of the enzymatic protective system was significantly reduced, and the low- molecular antioxidant system was activated, increasing at times. It is considered, that the interaction of enzymatic and low-molecular components of the antioxidant protection system of plant tissue has a reciprocal character.

Keywords: bread wheat, barley, stress, drought, proline, peroxidase

Абиотические факторы и неблагоприятные климатические условия приводят к стрессу, сопровождающемуся рядом метаболических изменений у растений. Одним из главных факторов стресса является засуха. Проблема глобального потепления может привести к тому, что климат станет еще более засушливым. Поэтому изучение механизмов адаптации растений к засухе и на сегодняшний день остается актуальным.

Цель наших исследований заключалась в изучении активности компонентов *антиоксидантной* защитной системы у образцов различных разновидностей и сортов злаковых культур при воздействии засухи.

Материалы и методы исследования

В качестве материала исследования использовались образцы пяти разновидностей мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): var. delfi k-79, var. erythrospermum k-10, var. hostianum k-50, var. albidum k-25, var. velutinum k-30 и трех сортов ячменя: Pallidum 596, Polongi, Flor. Растения выращивались в условиях фитотрона при температуре 20–21°С, влажности 60–70%, 16-часовом фотопериоде, освещенности 10000 люкс. Пятидневные проростки в течение 24 ч подвергались воздействию умеренной и сильной засухи, моделированной с помощью осмотических растворов сахарозы в 14 и 20 атм. Определялись активность гваякол-пероксидазы и содержание пролина в листьях [1, 2].

Определение активности пероксидазы спектрофотометрическим путем основано на измерении оптической плотности продуктов, образующихся в ходе реакции окисления гваякола. После измельчения листьев (200 мг) в фарфоровой чашке с небольшим

количеством (5-10 мл) фосфатного буфера (рН 5,4) смесь центрифугировали в течение 10 минут со скоростью 4000-5000 об/мин. Оптическая плотность реакционной смеси, состоящей из 0,5 мл $\rm H_2O_2$, 0,5 мл субстрата (гваякола), 1,5 мл фосфатного буфера, 0,5 мл супернатанта (ферментативного растительного материала), измеряли на спектрофотометре (УФ-3100 ПК) в течение 1 мин, при длине волны 470 нм. Оптическую плотность пролина определяли при длине волны 520 нм.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование образцов мягкой пшеницы и ячменя показало, что во время засухи активность гваякол-пероксидазы и содержание пролина в листьях всех образцов значительно менялись относительно контроля.

Мягкая пшеница. В контрольных вариантах активность фермента менялась в диапазоне 0,111–0,243, имея максимальный показатель у проростков var. delfi k-79, а минимум у var. erythrospermum k-10 (рис. 1).

Во время умеренной засухи (14 атм) активность фермента варьировала в диапазоне 0,232–0,367, а при воздействии сильной засухи (20 атм) – между 0,087 и 0,234. Минимум активности фермента был отмечен у образцов var. albidum k-25 как при среднем стрессе, так и при высокой концентрации сахарозы (соответственно, 0,232 и 0,087), а максимум – у проростков var. hostianum k-50 (0,367) при умеренной, и у растений var. erythrospermum k-10 (0,234) при сильной засухе.

Образцы, участвующие в эксперименте, продемонстрировали различные изменения в процентном отношении к контролю. Так, во время средней засухи в 14 атм наблюдалось увеличение активности гваякол-пероксидазы во всех вариантах опыта. Наибольшее увеличение было отмечено у проростков var. *erythrospermum* k-10 (223,0%) и var. *hostianum* k-50 (207,3%).

При увеличении силы возлействия стресса (20 атм) наблюдали частичное или резкое ослабление активности фермента: самый высокий показатель все еще был отмечен у растений var. erythrospermum к-10 (210,8%). Активность гваякол-пероксидазы у образцов var. delfi k-79, var. albidum k-25, var. velutinum k-30 и var. hostianum k-50 снизилась и по отношению к контролю составила 36,6; 44,6; 57,6 и 65,5% соответственно. В течение суток активность фермента в проростках var. delfi k-79 снизилась на 0,154 единицы, что составило 36,6% от контроля, что является суммой максимального расхода конституционного пула пероксидазы в течение дня. Ослабление активности фермента, вызванное сильной засухой, можно объяснить большим количеством повреждений в растениях, расходом фермента, большим по сравнению с его синтезом, его деградацией, или увеличением активности низкомолекулярных компонентов защитной системы, выполняющих в клетке антиоксидантную функцию [3].

Содержание свободного пролина в контроле менялось в пределах 0,083–0,12 µМ/мг. Минимальный показатель наблюдался у растений var. *erythrospermum* k-10, максимальный у var. *albidum* k-25 (рис. 2).

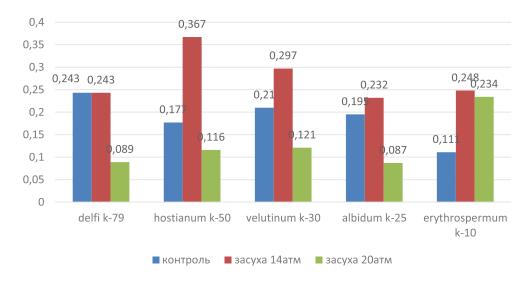


Рис. 1. Активность гваякол-пероксидазы у образцов мягкой пшеницы в условиях умеренной и сильной засухи (14 и 20 атм)

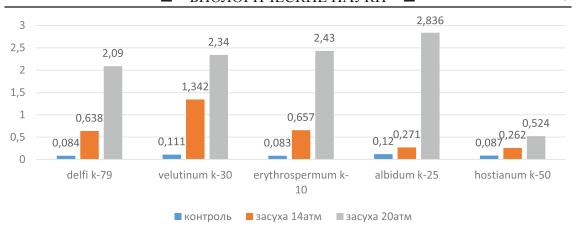


Рис. 2. Содержание пролина в образцах мягкой пшеницы (µМ/мг) в условиях умеренной (14 атм) и сильной (20 атм) засухи

Во всех вариантах опыта наблюдалось увеличение содержания этой аминокислоты. При умеренном воздействии стресса (14 атм) содержание пролина менялось в интервале $0.262-1.342 \mu M/мг$. У образцов var. hostianum k-50 отмечены минимальные, a y var. velutinum k-30 -максимальные значения содержания аминокислоты. В то время как у var. albidum k-25 содержание пролина увеличилось более чем в 2,25 раза, а y var. hostianum k-50 - в 3 раза по отношению к контролю, показатели var. velutinum k-30 были выше в 12,09 раза. Влияние сильной засухи (20 атм) также несколько увеличило количество аминокислоты в 6-23,6 раза по сравнению с контролем. Самый низкий уровень наблюдался у образцов var. hostianum k-50, а самый высокий у экспериментального варианта var. albidum k-25. В целом содержание пролина изменялось в диапазоне 0,524-2,836 µМ/мг. Предельные значения относились к опытным вариантам var. hostianum k-50 и var. albidum k-25 соответственно.

У образцов var. hostianum k-50 влияние умеренной засухи привело к увеличению содержания свободного пролина на 0,175 µМ/ мг в течение суток, в то время как при воздействии сильной – прирост составлял 0,437 µМ/мг относительно контроля. В проростках var. albidum k-25 эти цифры составили 0,151 μМ/мг и 2,716 μМ/мг соответственно. То есть антиоксидантная система защиты усилила синтез низкомолекулярного компонента в зависимости от силы воздействия стресса. Однако резкий рост содержания пролина у растений var. albidum k-25 не исключает того, что, наряду с синтезом, количество пролина может увеличиваться за счет деградации белков [3].

Повышение дозы стрессового фактора, а в нашем случае засухи, приводит к большему увеличению содержания свободного пролина в растительной ткани. Поскольку пролин обладает осмопротекторной и антиоксидантной функциями, следовательно, значительное увеличение его содержания направлено на защиту растения от резкого воздействия стресса.

Ячмень. Аналогичная тенденция наблюдалась и у ячменя. У контрольных растений содержание свободного пролина менялось в диапазоне 0,096–0,16 µМ/мг (рис. 3). Образцы Pallidum 596 имели минимальные показатели, а опытный вариант Polongi – максимальные. Влияние засухи средней степени (14 атм) не вызвало большого увеличения содержания аминокислоты, оно достигало 0,127–0,170 µМ/мг. Это свидетельствует о том, что ячмень устойчив к умеренной засухе. Аналогичные данные были получены и в работах других исследователей [4].

Влияние стрессора высокой интенсивности (20 атм) привело к значительному увеличению содержания свободного пролина, значения которого варьировали в диапазоне 0,227–0,310 µМ/мг. Максимальное содержание аминокислоты наблюдалось у сорта Polongi, а минимальное — у сорта Pallidum 596. Однако по отношению к контролю содержание пролина у сорта Polongi увеличилось в 1,93 раза; у сорта Pallidum 596 — в 2,36 раза; у сорта Flor — в 2,46 раза.

Активность ферментативного компонента антиоксидантной системы защиты, т.е гваякол-пероксидазы, находилась в обратно пропорциональной зависимости с содержанием низкомолекулярного ком-

понента — пролина. Так, активность гваякол-пероксидазы при стрессе средней интенсивности (14 атм) значительно возросла и изменилась в интервале 0,571— 0,675 (рис. 4). У контрольных растений этот показатель варьировал между 0,123 и 0,144. Максимальное увеличение активности фермента наблюдалось у опытного варианта сорта Flor — в 8,13 раза больше контрольного, минимальное — у растений сорта Polongi, что в 3,96 раза превосходит контрольный вариант. Активность гваякол-пероксидазы в опытном варианте Pallidum 596, повышаясь, составила 0,606, что в 4,26 раза выше, чем в контроле.

При воздействии засухи высокой интенсивности (20 атм) активность пероксидазы изменялась в диапазоне 0,138–0,338. У образцов сорта ячменя Pallidum 596 активность фермента снизилась до 0,138, что составило 97,0% от контрольного показателя. Активность фермента в вариантах опыта

Polongi и Flor увеличилась и, соответственно, составила 0,338 (в 2,35 раза больше, чем в контроле) и 0,310 (в 2,25 раза больше, чем в контроле).

Следует отметить, что независимо от вида зерновой культуры, при воздействии умеренной и сильной засухи наблюдалась обратно-пропорциональная зависимость между содержанием пролина и активностью гваякол-пероксидазы. Так, если во время сильного стресса, по сравнению с умеренным, содержание пролина у образцов var. delfi k-79 увеличилось в 3,2 раза, то активность фермента ослабла в 2,7 раза. Эти показатели составляют 1,7 и 3,1 y var. *velutinum* k-30; 3,6 и 2,5 y var. erythrospermum k-10; 2,0 и 1,1 y var. *hostianum* k-50 соответственно. У образцов var. *albidum* k-25 содержание пролина при сильном стрессе по сравнению с умеренным значительно возросло и увеличилось в 10,4 раза, а активность пероксидазы ослабла в 2,6 раза.

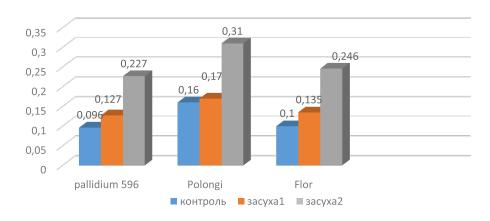


Рис. 3. Содержание пролина при стрессе у растений ячменя: 1 – контроль; 2 – умеренная засуха (14 атм); 3 – сильная засуха (20 атм)

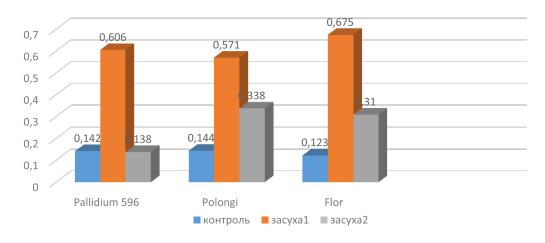


Рис. 4. Активность пероксидазы у образцов ячменя в условиях стресса: 1 – контроль; 2 – умеренная засуха (14 атм); 3 – сильная засуха (20 атм)

Незначительное увеличение содержания пролина сопровождалось значительным повышением активности гваякол-пероксидазы в ходе воздействия стресса умеренной интенсивности у всех трех сортов ячменя. А при воздействии сильной засухи, напротив, значительное увеличение содержания свободного пролина сопровождалось умеренным увеличением активности фермента. Так, по сравнению с засухой средней интенсивности, при сильной засухе содержание свободного пролина в проростках ячменя сорта Polongi увеличилось в 1,9 раза, а активность пероксидазы снизилась в 1,7 раза. Если у образцов сорта Flor содержание пролина увеличивалось в 1,8 раза, то активность фермента уменьшалась в 2,1 раза. У проростков сорта Pallidum 596 содержание пролина увеличилось в 1,8 раза, однако активность пероксидазы снизилась даже ниже значения контроля, что в 4,39 раза ниже, чем при воздействии умеренного стресса. Полученные результаты свидетельствуют о взаимодействии компонентов системы антиоксидантной защиты.

Согласно представленным многочисленным экспериментальным данным, изактивности антиоксидантных менение ферментов зависит от дозы, продолжительности действия стресс - фактора, уровня активности ферментов и генотипа растения, используемого в исследовании [5]. Но эффективность работы антиоксидантных ферментов не всегда достаточна для детоксикации свободных радикалов, образующихся в больших количествах при усилении воздействия стресса [6]. Результаты свидетельствуют о том, что пролин несет антиоксидантную функцию и участвует в гашении свободных радикалов. Кроме того, пролин играет важную роль в поддержании клеточного метаболизма, обеспечивая выживание растений в экстремальных условиях [7]. С этой точки зрения выявленные нашими экспериментами различия в активности ферментативных и низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы у пшеницы и ячменя вносят определенный вклад в изучение механизма защиты растений при стрессе. Таким образом, если значительное повышение активности фермента гваякол-пероксидазы при воздействии стресса умеренной интенсивности (14 атм) на проростки исследуемых образцов пшеницы и ячменя сопровождалось незначительным увеличением содержания

аминокислоты пролина, то в условиях высокой дозы (20 атм) ферментативная защитная система значительно снижала свою активность, а низкомолекулярный компонент антиоксидантной системы, в данном случае пролин, активировался, что подтверждается многократным увеличением его содержания в проростках. На основании этих данных можно утверждать, что во время засухи происходит взаимодействие ферментативных и низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы защиты в тканях растительного организма, т.е. можно говорить о наличии реципрокных отношений. В ряде литературных источников также есть информация о возможном наличии реципрокной связи между пролином и антиоксидантными ферментами. Подобная закономерность была обнаружена у ряда дикорастущих растений [8] и пшеницы [9].

Список литературы

- 1. Bates L.S., Walden R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205–207.
- 2. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. С. 41–43.
- 3. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. 2014. Вып. 2 (32). С. 6–22.
- 4. Кириллов А.Ф., Козьмик Р.А., Даскалюк А.П., Кузнецова Н.А., Харчук О.А. Оценка содержания пролина в растениях сои при воздействии засухи и засоления // Доклады по экологическому почвоведению. 2013. № 1. Вып. 18. С. 194–201.
- 5. Маевская С.Н., Николаева М.К. Реакция антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы на засуху и регидратацию // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 3. С. 351–359.
- 6. Сошинкова Т.Н., Радюкина Н.Л., Королькова Д.В., Носов А.В. Пролин и функционирование антиоксидантной системы растений и культивируемых клеток *Thellungiella salsunigea* при окислительном стрессе // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 1. С. 47–60.
- 7. Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline indu ces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo*. Molecular Biology Reports. 2013. V. 40. P. 3269–3279.
- 8. Карташов А.В., Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Пашковский П.П., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Роль антиоксидантных систем при адаптации дикорастущих видов растений к солевому стрессу // Физиология растений. 2008. Т. 55. С. 516–522.
- 9. Yang Y., Zhang Y., Wei X., You J., Wang W., Lu J., Shi R. Comparative antioxidativer esponses and proline metabolism in two wheat cultivars under short term lead stress. Ecotoxicol. Environ. Safety. 2011. V. 74. P. 733–740.