

**ОЦЕНКА СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ УРОВНЯ ОКСИДАТИВНОГО
СТРЕССА В ЛИСТЬЯХ ДЕКОРАТИВНОГО ДЕРЕВА *STYRHNOLOBIUM
JAPONICUM* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ**

Мухамедова Севара Нигматуллаевна

¹Ташкентский педиатрический медицинский институт, ассистент

²Национальный университет Узбекистана им. М.Улугбека, преподаватель

e-mail: shoxoldarova@gmail.com

Левицкая Юлия Владимировна

Центр передовых технологий при Министерстве инновационного развития

Республики Узбекистан, ученый секретарь

yv.levickaya@gmail.com

Абдуллаева Муборак Махмусовна

Национальный университет Узбекистана им. М.Улугбека, профессор

abdullayeva@gmail.com

АННОТАЦИЯ

В настоящее время одной из фундаментальных проблем является изучение клеточных и молекулярных механизмов приспособления растений к неблагоприятным условиям среды. Формирование адаптивного ответа на абиотические стрессоры в растительном организме происходит в результате многих метаболических изменений. Известно, что все живые организмы обладают способностью приспосабливаться к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды и защищаться от неблагоприятных условий. В статье описано состояние антиоксидантной системы растения софора японская, произрастающая в Узбекистане в летний период. В течение сезона

изучали количество ферментов антиоксидантной системы – ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, а также малонового диальдегида и пролина.

Ключевые слова: антиоксидантная система, каталаза, супероксиддисмутаза, малондиальдегид, пролин, японская софора.

EVALUATION OF THE SEASONAL DYNAMICS OF THE LEVEL OF OXIDATIVE STRESS IN THE LEAVES OF THE ORNAMENTAL TREE *STYPHNOLOBIUM JAPONICUM* DEPENDING ON GROWTH CONDITIONS

ABSTRACT

At present, one of the fundamental problems is the study of cellular and molecular mechanisms of plant adaptation to adverse environmental conditions. The formation of an adaptive response to abiotic stressors in a plant organism occurs as a result of many metabolic changes. It is known that all living organisms have the ability to adapt to biotic and abiotic environmental factors and protect themselves from adverse conditions. The article describes the state of the antioxidant system of the Japanese Sophora plant, which grows in Uzbekistan in the summer. During the season, we studied the activity of enzymes of the antioxidant system - enzymes of superoxide dismutase, catalase, as well as the amount of malondialdehyde and proline.

Keywords: antioxidant system, catalase, superoxide dismutase, malondialdehyde, proline, *Styphnolobium japonicum*.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с усилением антропогенного воздействия на окружающую среду актуально изучение воздействия факторов внешней среды на живые организмы, особенно на растения. Негативные факторы внешней среды оказывают постоянное или периодическое влияние на жизнь растений [7]. В связи с усилением антропогенной нагрузки на окружающую среду актуальной является

изучение воздействия факторов внешней среды на живые организмы, в частности на растения. Степень устойчивости индивидуальна, она также варьирует в зависимости от вида растения, влияния других факторов условий проживания. Даже разные клетки, ткани и органы растения могут различаться по степени выносливости. [8].

ЛИТЕРАТУРА И МЕТОДОЛОГИЯ

Окисление — это естественный и необходимый для организма процесс. Однако, когда существует дисбаланс между активностью свободных радикалов и антиоксидантной активностью, возникает оксидативный стресс. Без антиоксидантов (АО) свободные радикалы очень быстро причиняют серьезный вред, что в конечном итоге может привести к смерти. Оксидативный стресс возникает в растительной клетке в результате практически любых неблагоприятных воздействий. Засоление, атака патогенных организмов, механический стресс, засуха, гипоксия и множество других неблагоприятных факторов среды индуцируют дисбаланс производства и детоксификации активных форм кислорода (АФК) [2].

Явление оксидативного стресса и появление АФК в клетках является вполне физиологичным. Несмотря на это, важно во время нормализовать баланс, включением антиоксидантной системы (АОС). Разные растения выбирают разные пути защиты от АФК: это могут быть ферменты АОС (каталаза, СОД, пероксидаза и др.), низкомолекулярные АО (пролин, флаваноиды, каротиноиды и др.) или другие защитные реакции. Это зависит от условий произрастания, от вида растений, от степени адаптации в той или иной среде.

При неблагоприятных воздействиях у растений, в первую очередь, повреждаются мембранные структуры и из-за увеличения количества свободных радикалов увеличивается продукт перекисного окисления липидов - малондиальдегид (МДА) [6,9,12,15]. Для определения степени повреждения

клеточной мембраны растений измерение количества МДА является одним из удобных методов.

В ответ на неблагоприятные условия в клетках возрастает содержание углеводов, пролина (аминокислота), которые участвуют в защитных реакциях, стабилизируя цитоплазму. При водном дефиците и засолении у ряда растений концентрация пролина в цитоплазме возрастает в 100 раз и более [13]. Благодаря своим гидрофильным группам пролин может образовывать агрегаты, которые ведут себя как гидрофильные коллоиды. Этим объясняется высокая растворимость пролина, а также способность его связываться с поверхностными гидрофильными остатками белков. Необычный характер взаимодействия агрегатов пролина с белками повышает растворимость белков и защищает их от денатурации[14].

В частности, участие пролина в адаптации растений к засухе как осморегулятора общеизвестно. Его накопление приводит к увеличению клеточной осмолярности, что вызывает приток воды в клетки или снижает ее отток, обеспечивая при этом водный потенциал, необходимый для поддержания тургора в условиях недостатка воды [4].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования является оценка антиоксидантной системы растения *Styphnolóbium japónicum*. Это одно из часто используемых в благоустройстве городских территорий дерево до 25 м высоты с широкой шаровидной кроной, быстрорастущее и живущее до 150 лет. Родиной этого дерева считаются одновременно Япония, Китай и Корея. *Styphnolóbium japónicum* может расти на засоленных почвах, кроме того она засухоустойчива, теневынослива, что в совокупности делает ее предпочтительным объектом для благоустройства и озеленения в городских условиях.

Для достижения поставленной цели в листьях параллельно оценивался уровень МДА, а также активность ферментов антиоксидантной системы каталазы и СОД. Все измерения проводились в летний период, в одном и том

же разрезе времени (июнь, июль, август). При этом самые высокие температуры воздуха наблюдалось в период июль-август (39-42°C).

В качестве объекта исследования использовались листья софоры японской (*Styphnolóbium japónicum*), произрастающей на территории Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека и вблизи автомагистрали в районе площади Амира Тимура г.Ташкента. Листья собирались в утренние часы (7-9 часов утра). Для исследований были использованы деревья приблизительно одного возраста.

При определении количества МДА как конечного продукта ПОЛ (перикисное окисление липидов) была использована методика определения ТБК-реакционных продуктов [3]. Измерение СОД проводили по Сирота Т.В., 2000 с модификациями. Активность определяли по ингибированию супероксидрадикала в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде *in vitro*. [11]. Активность каталазы изучали спектрофотометрическим методом, основанном на способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [10]. Количество свободного пролина определяли по нингидриновой реакции [1]. В работе был использован спектрофотометр Cary Eclipse 60 (США). Статистическую обработку данных производили с использованием программы OriginPro 8.6.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами было обнаружено, что в листьях *Styphnolóbium japónicum*, растущих в ботаническом саду количество МДА составляло в среднем 5,5 мкм/г сырой массы в июне, а в июле - в самом разгаре лета (*рис.5*). (средняя температура воздуха днем от 38 до 39°C) плавно повышалось до 7 мкм/г сырой массы (*рис.1*).

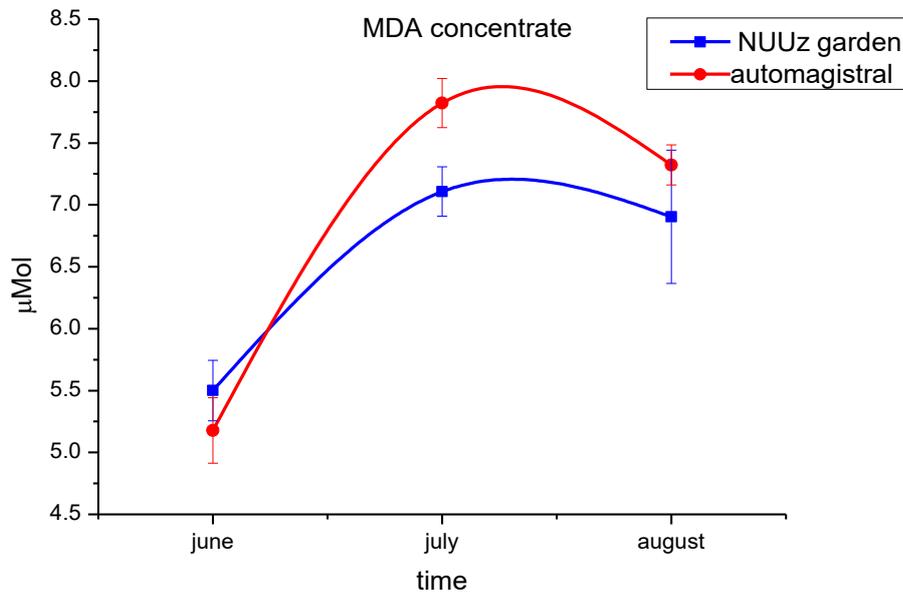


Рисунок 1. Динамика накопления МДА в условиях ботанического сада и автомагистрали в листьях *Styphnolóbium jarónicum*

Это означает, что растение испытывает некий стресс (ПОЛ) и помогает себе, активируя нужные части АОС: активность СОД в этот период увеличивалась практически в 3 раза (с 1,1мкМ до 3,2мкМ); активность фермента каталазы не менялась (на уровне 80%) (рис.2,3).

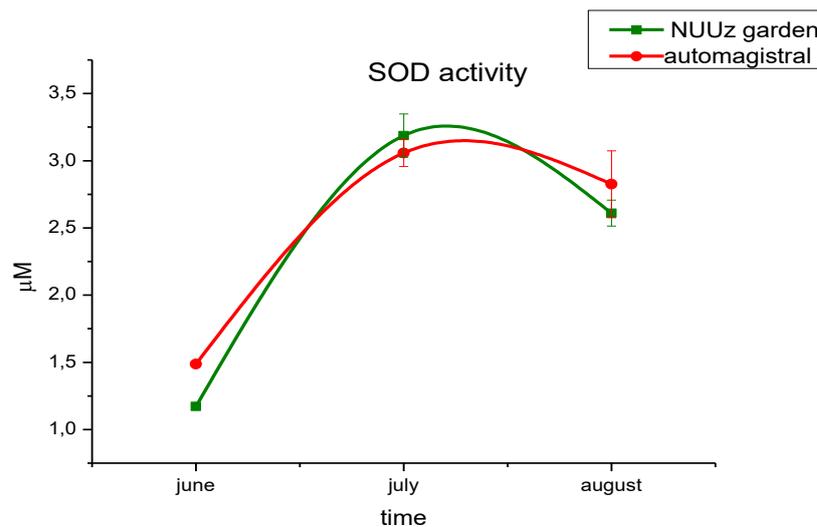


Рисунок 2. Ферментативная активность СОД в листьях *Styphnolóbium jarónicum*

Количество низкомолекулярного антиоксиданта (АО) – пролина держится на одном поддерживающем уровне 4,87- 4,93 мкМ/г (рис.4). К концу летнего сезона количество МДА в дальнейшем не повышалось и оставалось на прежнем уровне (6,9 мкМ/г сырой массы), при этом активность ферментов АОС снижалась - каталазы в 1,8 раза (с 81% до 46%); СОД в 1,2 раза (с 3,2мкМ до 2,6 мкМ), а количество пролина снижалось почти в 2 раза (от 4,93 до 2,65 мкМ/г), т.к. уже в августе средняя температура воздуха днем снижается до 36°C(рис.5).

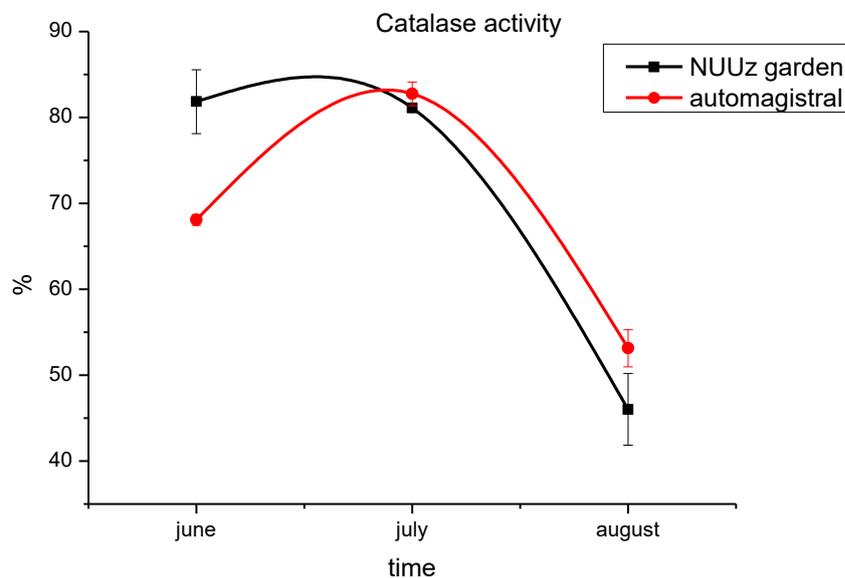


Рисунок 3. Ферментативная активность каталазы в листьях *Styphnolóbium jarónicum*

У *Styphnolóbium jarónicum*, растущих вдоль автомагистралей, значения МДА в листьях растений в течение сезона изменяются более значительно: в июне значение составляло 5мкМ/г сырой массы, а в июле увеличилось в 1,6 раза (до 8 мкМ/г сырой массы). Из-за дополнительных стрессовых факторов вдоль автомагистралей количество пролина уже в июне в 2 раза выше чем у представителей ботанического сада (9,79мкМ/г) (рис.4).

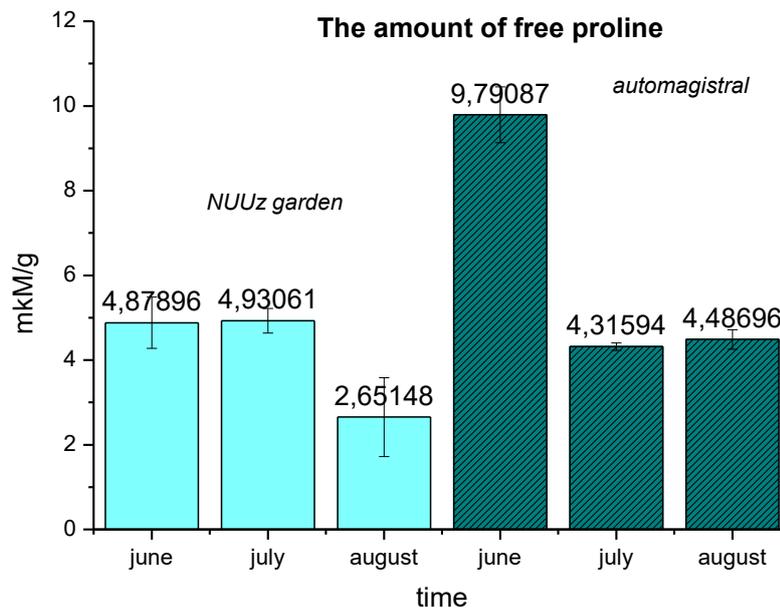


Рисунок 4. Сезонные изменения в содержании пролина в листьях *Styphnolóbiium jarónicum* в зависимости от места произрастания

В июле активность ферментов АОС значительно повышалась: активность СОД в 2 раза (с 1,5 мкМ до 3 мкМ); активность каталазы 1,2 раза (с 68% до 83%). За счет эффективного запуска работы ферментов АОС количество пролина падает в 2,3 раза на базовый уровень (4,32 мкМ/г). В августе отмечалось снижение количества МДА в листьях деревьев этой группы (с 8 до 7,3 мкМ/г сырой массы) и что может свидетельствовать об эффективном снижении уровня оксидативного стресса (ОС), в том числе и за счет работы ферментов АОС. После снижения уровня ОС активность ферментов начинает снижаться: для СОД показатели в августе с 3 мкМ плавно снижались до 2,8 мкМ ; а для каталазы активность падала в 1,5 раза (с 83% до 53%). Значения пролина остаются почти на том же уровне.

Результаты показывают, что под влиянием стрессовых факторов активируется защитная система растений. Однако выбор реакций и ферментов, защищающих от окислительного стресса, различается в зависимости от вида

растения и места произрастания, а также дополнительных стрессовых факторов (антропогенных и техногенных). Неблагоприятные климатические условия приводят к активации ферментов антиоксидантной системы растений, при этом СОД и каталаза работают в комплексе друг с другом и снижают образование МДА - конечного продукта ПОЛ. Среди изученных ферментов АОС в адаптации к стрессовым условиям у *Styphnolóbium japónicum* более активно участвует СОД. Активацию фермента каталазы можно наблюдать и в листьях этого вида деревьев, растущих вблизи автомагистрали, что можно объяснить наличием дополнительного стресса.

Для оценки активности антиоксидантной системы (АОС) рассчитывали соотношение количества МДА в летние месяцы, которое показало, что показатель в обоих случаях был разным, т.е. в условиях ботанического сада этот показатель был относительно низким, что свидетельствует о дополнительном антропогенном стрессе на растениях, растущих возле магистрали.

Свободный пролин играет важную роль в механизмах повышения стрессоустойчивости растений [5]. В нашем исследовании мы можем наблюдать, что пролин в больших количествах накапливался не только под влиянием высоких температур, но и под влиянием дополнительных антропогенных воздействий. Это говорит о том, что пролин, наряду с его осмопротекторной и шапероновой ролью, также обладает антиоксидантным действием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные показывают, что устойчивость сафоры японской к высоким температурам, антропогенным воздействиям связана с различными физиологическими, биохимическими и молекулярно-генетическими механизмами, среди которых важную роль играет активация активности АОС.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bates L.S., Waldrin R.P., Ter J.D. Rapid Determination of free proline for water stress studies // *Plant and soil*. 1973. Vol.39. №1. Pp. 205–208.
2. Demidchik V, Frans JM Maathuis. Ion channels and plant stress responses// Springer. 2010. 237pp.;
3. Graziano A., Montea I., Maiolino L. and et al. Analytical approaches to the diagnosis and treatment of aging and aging-related disease: redox status and proteomics // *Free Radical Research*. 2015. Vol. 49, № 5. P. 511-524. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffpls.2015.01105>.
4. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. // *Arch Biochem Biophys*. 1968;125:189–198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1
5. Joseph, E.A., Radhakrishnan, V.V. & Mohanan, K.V. (2015). A study on the accumulation of proline — an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice cultivars of North Kerala, India. *Univ. J. Agr. Res.*, 3, pp. 15-22. doi: 10.13189/ujar.2015.030104
6. Kaznacheeva M.S., Tsebrzhinsky I. Able of contents of malondialdehyde in sorts of plants different on level of stability to the diseases // *Вісн. Одеського національного ун-ту. Біологія*. 2011. Т. 16, № 6 (24). С. 12–17.
7. Mazid M., Khan T.A., Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants// *Biology and Medicine*. 2011. № 3. P. 232-249.
8. Szabados, L., Savoure A. Proline: A multifunctional amino acid// *Trends in Plant Sci*. 2009. – Vol. 15. – P. 89–97.
9. Theocharis, A., Clement Ch., Barka E.A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperature // *Planta*. 2012. Vol. 235. P. 1091–1105.
10. Yang Y., Guo Y. Unraveling salt stress signaling in plants// *Journal of Integrative Plant Biology*. 2018. Vol. 60, № 9. P. 796-804. DOI: <https://doi.org/10.1111/jipb.12689>.
11. Бекназаров Б.О. Физиология растений. Ташкент. 2009. 424-484б.

12. Жиров В.К., Голубева Е.И., Говорова А.Ф., Хаитбаев А.Х. Структурно-функциональные изменения растительности в условиях техногенного загрязнения на Крайнем Севере / отв. ред. Е.Е. Кислых. М. : Наука, 2007. С. 10–12.
13. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
14. Сирота Т.В. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений // Заявл.9910319214 (003673); Опубл. 20.01.2000, Бюлл. № 2.
15. Филимонихина Е.Г., Лихолат Ю.В. Устойчивость растений подтапливаемых территорий в условиях засухи в г. Кировоград // Вісн. Дніпропетровсь-кого ун-ту. Біологія. Екологія. 2011. Т. 2, № 19. С. 132–135.