

# Изменение уровня перекисного окисления липидов и активности компонентов антиоксидантной системы защиты растений в различные фенологические фазы развития

Е.А. Отвалко

Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

*В работе изучена динамика содержания диеновых конъюгатов, фенольных соединений, ферментов (каталазы, глутатионредуктазы) в почках и листьях смородины черной (*Ribes nigrum* L.), калины обыкновенной (*Viburnum opulus* L.), шиповника коричневого (*Rosa cinnamomea* L.). На протяжении вегетационных циклов развития растений отмечалось увеличение продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов) в фазе раскрытия листовых почек у калины обыкновенной и смородины черной. Выявлено максимальное накопление количества фенольных соединений в период полного облиствения кустарниковых растений. У всех исследуемых объектов наблюдается низкая активность каталазы в почках, по сравнению с листьями. При изучении активности глутатионредуктазы установлено, что в фазу изменения окраски листьев у смородины черной и шиповника коричневого достоверно снижается активность фермента.*

**Ключевые слова:** активные формы кислорода (АФК), перекисное окисление липидов, антиоксиданты.

## Change in the level of lipid peroxidation and activity of components of antioxidant system of plant protection in different phenological phases of development

E.A. Otvalko

Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masherov»

*The paper considers the dynamics of the content of dienal conjugates, phenolic compounds, enzymes (catalase, glutathionereductase) in buds and leaves of black currant (*Ribes nigrum* L.), guelder-rose ordinary (*Viburnum opulus* L.) seeds, cinnamon (*Rosa cinnamomea* L.). During the vegetation cycles of development of the plant there was an increase in lipid peroxidation products (dienal conjugates) in the phase of disclosure of leaf buds of guelder-rose ordinary and black currant. Maximum accumulation of the amount of phenolic compounds in the period of full shrub plants was revealed. In all of the studied objects we observed low activity of catalase in plan buds, in comparison with the leaves. In the study of the activity of glutathionereductase it was found out that during the phase of change of colouring in black currant and wildrose cinnamon leaves enzyme activity reliably reduced.*

**Key words:** reactive oxygen forms, lipid peroxidation, antioxidants.

Фундаментальная проблема изучения биологических ритмов развития растений занимает центральное положение в сфере теоретических и прикладных дисциплин. Растения живут в постоянно изменяющихся условиях окружающей среды, подвергаются действию различных абиотических и биотических факторов природы. Им приходится адаптироваться к этим факторам и формировать механизмы противодействия их негативному влиянию. Известно, что реакция растения на любые отклонения факторов среды от нормы включает специфические и неспецифические ответные реакции. Не-

специфической реакцией является образование свободных радикалов и активных форм кислорода (синглетный кислород, пероксид водорода), которые вызывают перекисное окисление мембранных липидов, разрушение пигментов и клеточных структур, подавление роста и развития. Однако в растениях существует система защиты от окислительной деструкции, состоящая из ферментов (супероксиддисмутаза, каталазы, пероксидазы, глутатионредуктазы и др.) и низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбата, глутатиона, каротиноидов, фенольных соединений и др.). Учитывая значимую роль ак-

тивных форм кислорода в ответных реакциях организмов и разнообразие механизмов защитных реакций, отражающих функциональное состояние кустарниковых растений, можно прогнозировать направленность биохимических изменений к действию антропогенных и биотических стрессоров. В связи с этим представляет интерес изучение роли перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности компонентов антиоксидантной системы защиты растений. Тем не менее, особенности ПОЛ и компонентов антиоксидантной системы растений в различные фенологические фазы развития изучены недостаточно. Таким образом, целью работы явилось изучение концентрации фенольных соединений в зависимости от уровня показателей перекисного окисления липидов и активности компонентов антиоксидантной системы защиты растений в различные фенологические фазы развития [1–3].

**Материал и методы.** Для исследования брали почки и листья смородины черной (*Rubus nigrum* L.), шиповника коричневого (*Rosa cinnamomea* L.) и калины обыкновенной (*Viburnum opulus* L.). Пробы для анализа были взяты в соответствии с фенофазами [4]. Указанное сырье собиралось в течение весны, лета, осени 2011–2012 гг.

Для оценки состояния перекисного окисления липидов в исследуемых объектах определяли содержание диеновых конъюгатов по методике И.Д. Стальной [5]. Суммы фенольных соединений (ФС) и суммы флавоноидов (ФЛ) определяли в спиртовых экстрактах спектрофотометрическим методом [6]. Активность каталазы выявляли по методу М.А. Королюк с учетом

коэффициента молярной экстинкции  $\varepsilon = 22200 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [7]. Активность глутатионредуктазы определяли по методу М.С. Радюка [8]. После проверки вариационных рядов на правильность распределения статистическую обработку вели с помощью критерия t Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты экспериментальной работы приведены в табл. 1–4.

Для кустарниковых растений характерна длительная фаза раскрытия листовых почек (около 1 месяца). В это время содержание фенольных соединений и флавоноидов минимально по сравнению с другими исследуемыми фазами. Количество ФС в фазу изменения окраски листьев уменьшается на 74% в листьях смородины черной, на 67% – калины обыкновенной, на 59% – шиповника коричневого. Снижение содержания суммы ФС также наблюдается в фазу изменения окраски листьев. Вероятно, максимальное количество ФС накапливается к моменту формирования зеленых листьев, что связано с активным синтезом ФС в хлоропластах листьев.

На протяжении вегетационного периода максимальное содержание ФЛ наблюдалось в стадию полного облиствения. В это время ФЛ используются в качестве стимуляторов ростовых процессов, где они подвергаются вторичным биосинтетическим процессам. В стадию развития почек содержание ФЛ снижается на 58% у смородины черной, на 40% у калины обыкновенной, на 35% у шиповника коричневого. Максимальное уменьшение ФЛ наблюдается осенью на 77% у смородины черной, на 40% у калины обыкновенной, на 90% у шиповника коричневого.

Таблица 1

**Содержание суммы фенольных соединений (ФС) и флавоноидов (ФЛ) в % от сухой массы**

Растительные объекты	Фенофазы развития кустарниковых растений					
	Облиствение: полное облиствение		Развитие почек: разверзание		Изменение окраски листьев: начало пожелтения листьев	
	ФС	ФЛ	ФС	ФЛ	ФС	ФЛ
Смородина черная ( <i>Rubus nigrum</i> L.)	39,4±0,35	2,1±0,02	10,3±0,32 <sup>1</sup>	0,8±0,03 <sup>1</sup>	11,4±0,15 <sup>1</sup>	0,4±0,01 <sup>1</sup>
Калина обыкновенная ( <i>Viburnum opulus</i> L.)	53,5±0,21	1,3±0,03	17,5±0,54 <sup>1</sup>	0,8±0,03 <sup>1</sup>	15,3±0,21 <sup>1</sup>	0,5±0,02 <sup>1</sup>
Шиповник коричневый ( <i>Rosa cinnamomea</i> L.)	61,2±0,32	2,2±0,03	25,0±0,62 <sup>1</sup>	1,4±0,04 <sup>1</sup>	20,7±0,32 <sup>1</sup>	0,2±0,01 <sup>1</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с фазой облиствения растений.

**Содержание диеновых конъюгатов (мкмоль/г ткани) в растительных объектах**

Растительные объекты	Фенофазы развития кустарниковых растений		
	Облиствение: полное облиствение	Развитие почек: разверзание	Изменение окраски ли- стьев: начало пожелтения листьев
Смородина черная ( <i>Ribes nigrum</i> L.)	0,74±0,006	0,80± 0,130	0,05±0,008 <sup>1</sup>
Калина обыкновенная ( <i>Viburnum opulus</i> L.)	0,38±0,004	0,87±0,119 <sup>1</sup>	0,07±0,009 <sup>1</sup>
Шиповник коричный ( <i>Rosa cinnamomea</i> L.)	0,21±0,003	0,16±0,009 <sup>1</sup>	0,04±0,007 <sup>1</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> – p < 0,05 по сравнению с фазой облиствения растений.

Таблица 3

**Изменения активности каталазы (мкмоль/мин·г) в растительных объектах**

Растительные объекты	Фенофазы развития кустарниковых растений		
	Облиствение: полное облист- вление	Развитие почек: разверзание	Изменение окраски листь- ев: начало пожелтение ли- стьев
Смородина черная ( <i>Ribes nigrum</i> L.)	0,350±0,0312	0,270±0,0213 <sup>1</sup>	0,760±0,0161 <sup>1</sup>
Калина обыкновенная ( <i>Viburnum opulus</i> L.)	0,599±0,0144	0,434±0,0391 <sup>1</sup>	0,983±0,0482 <sup>1</sup>
Шиповник коричный ( <i>Rosa cinnamomea</i> L.)	0,298±0,0364	0,163±0,0981 <sup>1</sup>	0,612±0,0173 <sup>1</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> – p < 0,05 по сравнению с фазой облиствения растений.

Таблица 4

**Изменения активности глутатионредуктазы (мкмоль/ч·г) в растительных объектах**

Растительные объекты	Фенофазы развития кустарниковых растений		
	Облиствение: полное облист- вление	Развитие почек: разверзание	Изменение окраски ли- стьев: начало пожелтения листьев
Смородина черная ( <i>Ribes nigrum</i> L.)	271±2,8	174±2,4 <sup>1</sup>	112±2,5 <sup>1</sup>
Калина обыкновенная ( <i>Viburnum opulus</i> L.)	156±2,4	140±1,5 <sup>1</sup>	182±2,0 <sup>1</sup>
Шиповник коричный ( <i>Rosa cinnamomea</i> L.)	70,6±1,7	45,9±1,8 <sup>1</sup>	51,1±2,1 <sup>1</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> – p < 0,05 по сравнению с фазой облиствения растений.

Как видно из табл. 2, отмечалось увеличение содержания диеновых конъюгатов (ДК), ранних продуктов свободнорадикального окисления, в фазу раскрытия листовых почек на 129% у калины обыкновенной. Осенью в фазу изменения окраски листьев отмечается снижение содержания ДК на 81% у калины обыкновенной и на 93% ниже контроля у смородины черной.

У всех исследуемых объектов наблюдается низкая активность каталазы в почках, по сравне-

нию с листьями. Это объясняется тем, что почки, возможно, еще находились в состоянии вынужденного покоя. Увеличение активности каталазы наблюдается в фазу изменения окраски листьев на 63% у калины обыкновенной, на 105% у шиповника коричневого и на 117% у смородины черной. Вероятно, это связано с накоплением за вегетационный период перекисных соединений.

Активность глутатионредуктазы (ГР) достоверно снижается в фазу развития почек у смо-

родины черной, шиповника коричневого на 35% и калины обыкновенной на 10% соответственно, по сравнению с фазой облиствения. В фазу изменения окраски листьев активность ГР у смородины черной и шиповника коричневого уменьшается на 59% и 27% соответственно, по сравнению с фазой облиствения. У калины обыкновенной происходит увеличение активности ГР на 17% по сравнению с фазой облиствения.

Полученные результаты позволяют определить максимально уязвимые фенофазы для растительного организма, а также дать оценку изменений физиолого-биохимических показателей, отражающих жизнеспособное функциональное состояние растительного объекта.

**Заключение.** На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Сравнительный анализ биохимических показателей позволил выявить фенологические фазы развития с более высоким содержанием антиоксидантов фенольного типа, которые можно рекомендовать для сбора в качестве источников природных антиоксидантов. Содержание вторичных метаболитов (сумма фенольных соединений, сумма флавоноидов) максимально на стадии полного облиствения в листьях калины обыкновенной.

2. На этапе начала гибели листьев у разных кустарниковых растений в 5–15 раз уменьшается образование диеновых конъюгатов.

3. На этапе начала гибели листьев у разных кустарниковых растений отмечено повышение активности каталазы в 1,64–2,17 раза, а также снижение активности глутатионредуктазы в листьях смородины черной в 2,42 раза, в листь-

ях шиповника в 1,38 раза соответственно. При сохранении активности ГР в листьях калины обыкновенной.

Таким образом, заготовку сырья для биофармацевтического использования с целью получения биофлавоноидов целесообразно осуществлять на стадии полного облиствения. Биохимическим критерием развития почек может служить повышенный уровень диеновых конъюгатов, а биохимическим критерием начала гибели листьев – повышение активности каталазы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Духовский, П.Д. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессов / П.Д. Духовский // Физиология растений. – 2003. – № 2. – С. 165–170.
2. Попов, В.Н. Перекисное окисление липидов при низкотемпературной адаптации листьев и корней теплолюбивых растений табака / В.Н. Попов, О.В. Антипина, Т.И. Трунова // Физиология растений. – 2010. – № 1. – С. 153–156.
3. Чиркин, А.А. Биохимия: учеб. руководство / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – М.: Мед. лит., 2010. – 624 с.
4. Юркевич, И.Д. Фенологические исследования древесных и травянистых растений / И.Д. Юркевич, Д.С. Голод, Э.П. Ярошевич. – Минск: Наука и техника, 1980. – 80 с.
5. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
6. Ладыгина, Е.Я. Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фармацевтических вузов / Е.Я. Ладыгина [и др.]; под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М.: Высш. школа, 1983. – 176 с.
7. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
8. Радюк, М.С. Влияние низкой положительной температуры на содержание низкомолекулярных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов в зеленых листьях ячменя / М.С. Радюк [и др.] // Физиология растений. – 2009. – № 2. – С. 193–199.

Поступила в редакцию 07.02.2013. Принята в печать 24.04.2013

Адрес для корреспонденции: e-mail: elena.otvalcko@yandex.by – Отвалко Е.А.