

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРАСНООКРАШЕННОГО АМАРАНТА ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ДЕЙСТВИИ УФ-А РАДИАЦИИ

Гинс М.С., Гамбарова Н.Г.*

ГНУ Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур
Россия, 143080, Московская область, п. ВНИИССОК, тел. (495)599-24-42
E-mail: vniissok@mail.ru

*Бакинский государственный университет, Азербайджан
E-mail: nailya-gambarova@rambler.ru

Показано, что кратковременное облучение красноокрашенных растений амаранта сорта Валентина УФ-А радиацией индуцирует возрастание потенциальной активности антиоксидантной системы в листьях амаранта, что связано с приспособительными реакциями растений к действию светового стрессора.

Ключевые слова: амарант, УФ-А радиация, окислительный стресс, антиоксидантная активность, пигменты, ферменты

Введение

Ухудшение экологической обстановки в мире, связанное с антропогенным загрязнением атмосферы продуктами промышленной деятельности человека, вызывает разрушение стратосферного слоя озона, формирующего защитный экран от ультрафиолетового излучения солнца (Стржижовский А.Д., 1999). Наблюдения последних лет показывают устойчивое уменьшение стратосферного слоя озона и увеличение уровня УФ-В – радиации. По воздействию на живые организмы ультрафиолетовая часть солнечного спектра подразделяется на три области: УФ-А (320-400 нм), УФ-В (280-320 нм) и УФ-С (200-280 нм). Озоновый слой земной атмосферы полностью задерживает УФ-С радиацию, 90% УФ-В радиации и пропускает УФ-А излучение. В связи с феноменом истощения озонового слоя, в полярных и средних широтах обоих полушарий повысился уровень УФ-В радиации. В области озоновых дыр у растений наблюдаются определенные изменения в морфологии и метаболизме (Полесская О.Г., 2007). Экспериментально показано отрицательное воздействие больших доз УФ-В радиации на процессы роста и развития растений, продуктивность и генофонд растений (Дубров А.П., 1968; Wellmann E., 1983). Поскольку УФ-В излучение поглощается биомолекулами, которое повреждает их структуру и в клетке индуцирует окисли-

тельный стресс, то это потенциально опасно для растений.

Невысокие дозы УФ-А радиации оказывают стимулирующее действие на рост и продуктивность растений, тогда как длительное облучение высокими дозами УФ-А радиации растений, вызывает снижение уровня фотосинтеза и продуктивности (Гинс М.С., 2002). В связи с неоднозначностью действия УФ-А радиации на рост, развитие и продуктивность растений, а также из-за разной чувствительности растений к действию ультрафиолета, УФ-А радиацию можно рассматривать в качестве селекционного фактора, повышающего устойчивость растений.



По мере повышения ультрафиолетового излучения, обусловленного разрушением озонового слоя атмосферы, в будущем всё больше будет обостряться проблема устойчивости сельскохозяйственных растений к жесткому ультрафиолетовому излучению, поскольку он индуцирует окислительный стресс, действие которого усиливается при высокой интенсивности света, температуре, засухе.

Материал и методика исследований

Удобной биологической моделью по изучению действия УФ-А излучения на развитие окислительного стресса является интродуцированное растение амарант. В листьях амаранта в большом количестве накапливается красный пигмент амарантин (бетацианин). Амарантин проявляет антиоксидантные свойства в различных модельных системах *in vitro*, выявлены механизмы действия амарантина при обезвреживании супероксидрадикала ($O_2^{\cdot-}$) и свободных радикалов (Гинс М.С., 2003). Важная роль отводится беталаиноксидазе – ферменту, катализирующему окисление молекулы амарантина в присутствии молекулярного кислорода, в результате которого образуется два соединения: 2,3 – дигидро – 5 глюкоокси – [5] и беталаиновая кислота и пероксид водорода.

Красноокрашенные виды амаранта содержат красно-фиолетовый пигмент амарантин, который может служить маркерным признаком чувствительности амаранта к действию стрессоров.

Для оценки устойчивости интродуцированных растений к стрессовым условиям выращивания нами разработана и использована на разных сортах амаранта комплексная система биохимических маркеров, способных служить диагностическим признаком устойчивости растений при оценке развития окислительного стресса под действием абиогенных и биогенных стрессоров.

В качестве маркеров потенциальной устойчивости растений использовали следующие признаки:

1. Активность ферментов-антиоксидантов (супероксиддисмутазы, пероксидазы, глутанон-редуктазы, каталазы).

2. Активность энзимов, обладающих достаточно широкой субстратной специфичностью и способных нейтрализовать действие широкого спектра вирусных, бактериальных и др. инфекций (кислая РНКоза, кислая ДНКоза, фосфатоза и др.).

3. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов: аскорбиновой кислоты, каротиноидов, бетацианинов (амарантина, бетанина), селена, полифенолов, в том числе флавоноидов.

4. Активность специфических оксидаз (беталаинооксидазы).

Ферменты и низкомолекулярные соединения, входящие в состав антиоксидантной системы высших растений, защищают важные компоненты клетки от окислительного стресса.

Поэтому исследование влияния кратковременной экспозиции УФ-А радиации на содержание и активность компонентов антиоксидантной системы листьев амаранта необходимо для понимания, какие механизмы защиты клетки формируются на начальном этапе окислительного стресса, индуцированного ультрафиолетом и оценки устойчивости растений к действию УФ-А стрессора.

В работе использовали 40 суточные растения амаранта *A. tricolor* L., сорта Валентина (селекции ВНИИССОК) выращенные в защищенном грунте, которые облучали УФ-А радиацией в течение 10 мин, 3 и 6 час. Источником длинноволнового ультрафиолета (УФ-А) служила экспериментальная лампа АЭ-30 с максимумом излучения при 353 нм, мощностью 30 Вт, изготовленная в лаборатории люминофоров института ГИРЕДМЕТ (Москва). Интенсивность биологически эффективной УФ-радиации составляла 0,035 Вт/м². Источник УФ помещали на

расстоянии 50 см от верхних листьев. Интенсивность освещения естественного света составляла 10-20 клк. Контролем служили растения, выращенные при естественном освещении.

Хлорофилл и каротиноиды экстрагировали из листьев 96% спиртом и рассчитывали содержание согласно Lichtenthaler H.K., Welburn A.R., 1983, при определении содержания амарантина использовали коэффициент экстинкции 56,6 мм⁻¹см⁻¹ при 535 нм (Piattellim., Giudicide Nicoba M., Cartrogiovanni V., 1969). Активность супероксиддисмутазы (1,15;1,1) определяли по методу Giannopolitis C.N.,

показатели в листьях облученных и контрольных растений амаранта были сравнимы, что позволяет предполагать, что в результате 10 мин. облучения растений УФ-А радиацией не произошло образования суперпродукции активных форм кислорода (АФК). Небольшое повышение активности супероксиддисмутазы (7%) и пероксидазы (5%), указывают, что это слабое воздействие стрессора, которое не вызывает накопления значительного количества АФК (табл. 2).

1. Влияние УФ-А радиации на содержание пигментов в листьях амаранта сорта Валентина

Время облучения	Содержание пигментов, мг/г сырой массы		
	Хлорофилл (a+v)	каротин	амарантин
контроль	1,67±0,05	0,531±0,005	0,98±0,05
10 мин	1,71±0,05	0,535±0,005	1,01±0,05
3ч	1,97±0,06	0,623±0,006	1,27±0,04
4ч	2,19±0,06	0,750±0,006	1,46±0,05

Ries S.K., 1997. Активность пероксидазы (1,11,1,7) определяли по изменению поглощения при 750 нм при образовании n, n¹ – диамина – дифенилхинона (Плешков Б.П., 1985). Содержание белка определяли по методу, описанному в работе Kumur C.N., Kowles N., 1993.

В листьях облученных растений количество антиоксиданта амарантина несколько снизилось, как и активность беталаинооксидазы в сравнении с контрольными растениями.

2. Влияние УФ-А радиации на активность ферментов в листьях амаранта сорта Валентина

Время облучения	Удельная активность единиц, /мг белка		
	пероксидаза	СОД	беталаинооксидаза
контроль	210±10	350±10	5,7±0,2
10 мин	213±10	365±15	5,3±0,2
3ч	230±9	401±15	4,6±0,2
6ч	253±15	480±20	3,9±0,2

Результаты и обсуждение

К воздействию УФ-радиации наиболее чувствительными органеллами являются апопласт и хлоропласты (Lowzy O.H. Rosebronch N., Farr A.L., Randall R.I. 1951). Полученные нами данные свидетельствуют, что 10-ти мин. экспозиция УФ-А радиации не вызывала изменений в содержании хлорофиллов (a + v) и каротиноидов, которое было на уровне контрольных растений (табл. 1). В листьях растений показателями развития окислительного стресса могут служить деградация хлорофиллов и накопление малонового альдегида. Однако эти

Наблюдаемое незначительное снижение содержания амарантина при окислении его ферментом может указывать на образование молекул перекиси водорода (H₂O₂), которые могут служить сигнальными молекулами, индуцирующими синтез амарантина.

Облучение растений амаранта лампой АЭ-30 в течение 3 часов вызвало повышение активности ферментов: СОД – на 12%, пероксидазы – на 10%, снижение активности беталаинооксидазы – на 30%. При этом содержание низкомолекулярных антиоксидантов амарантина повысилось до 30%, суммы

хлорофиллов (a + v) до 20%, а каротиноидов до 17%, по сравнению с контрольными растениями.

После 6-часовой экспозиции на растения амаранта воздействия УФ-А радиацией наблюдали возрастание активности СОД (35%) и пероксидазы (20%). В листьях амаранта повысилось содержание фотосинтетических пигментов – хлорофиллов (a + v) на 5%, каротиноидов на 7%, а количество амарантина возросло на 21%. В то время как активность бетааланооксидазы еще снизилась на 10%.

Представленные данные позволяют предположить, что в данных условиях облучения УФ-А – радиация является слабым стрессором, который стимулирует накопление фотосинтетических пигментов, в частности, суммы хлорофиллов (a+v) и каротиноидов, что свидетельствует о целостности тилакоидных мембран, активирует работу ферментов-антиоксидантов и индуцирует синтез низкомолекулярных пигментов-антиоксидантов – каротиноидов и амарантина. Предполагается, что стимулирование активности ферментов – супероксиддисмутазы и пероксидазы, и накопление низкомолекулярных соединений – каротиноидов и амарантина может указывать на высокую эффективность функционирования антиоксидантной системы амаранта.

Следовательно, защитная система клетки приспособляется к кратковременному действию УФ-А радиации. Особое значение при этом приобре-

тают компенсаторные изменения на молекулярном уровне, проявляющиеся в повышении активности ферментов антиоксидантов, индукции синтеза низкомолекулярных антиоксидантов. Компенсаторные изменения, обуславливающие повышение содержания антиоксиданта амарантина и снижение активности бетааланооксидазы, осуществляются за счет ослабления окислительной функции фермента, что способствует усилению антиоксидантной системы клетки.

Таким образом, кратковременное облучение красноокрашенных растений амаранта сорта Валентина УФ-А радиацией на фоне естественного освещения индуцирует возрастание потенциальной активности антиоксидантной системы в листьях

амаранта, что, можно полагать, связано с приспособительными реакциями растений к действию светового стрессора.

Выявленная устойчивость красноокрашенного амаранта определяется многими факторами, в том числе и экологическими условиями места его происхождения и основного ареала возделывания. Одним из центров происхождения амаранта и формирования его адаптивности к действию ультрафиолета являются высокогорные районы Латинской Америки, с высоким уровнем ультрафиолетового излучения. Кроме того, амарант возделывается на пищевые и кормовые цели в Мексике, Аргентине, Индии, Китае, т.е. в странах с высокой инсоляцией. Знание происхождения культуры и экспериментальная оценка их приспособительной реакции к действию разнообразных стрессоров позволит правильно подобрать исходный материал для селекции растений амаранта.

В связи с этим, выявление механизмов функционирования антиоксидантной системы на молекулярном уровне и выяснение их значения в формировании устойчивости разных видов амаранта к избыточной УФ-радиации необходимо для понимания особенностей развития окислительного стресса на начальном этапе при отборе исходного материала для селекции растений с высоким антиоксидантным потенциалом.



Литература

1. Стржижовский А.Д. Влияние ультрафиолетовой радиации повышенной интенсивности на растения: вероятные последствия разрушения стратосферного озона // Радиационная биология. Радиобиология. - 1999. - Т.39, №6. - С. 683-691.
2. Полеская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. - М.: КДУ, 2007. - 139 с.
3. Дубров А.П. Генетические и физиологические эффекты действия ультрафиолетовой радиации на высшие растения. // М.: Наука, 1968. - 250 с.
4. Wellmann E. UV Radiation in photomorphogenesis // Biochem. New. Ser. B. H., NY.: Springer. 1983. V. 168. P. 745-756.
5. Гинс М.С. Биологически активные вещества амаранта. Амарантин: свойства, механизмы действия и практическое использование. - М.: РУДН, 2002. - 183с.
6. Гинс М.С. Амарантин - новый участник окислительного стресса у растений амаранта. // Труды V Межд. Симп. "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования". М. Пущино, 2003. - Т.3. - С. 44-47.
7. Lichtenthaler H.K., Welburn A.R. // Biochem. Soc. Trans. - 1983. - V.11 №6.
8. Piattellim., Giudice Nicoba M., Cartogiovanni V, // Phytochemistry. - 1969. - V 8. - №6.
9. Giannopolitis C.N., Ries S.K. // Plant physiol. - 1997, V 5, 9- №2.
10. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. М., - 1985.
11. Kumur C.N., Kowles N. // Plant physiol., 1993, V. 102.
12. Lowzy O.H. Rosebronch N., Farr A.L., Randall R.I. // I. Biol. - 1951. - V. 193.

Sommer A., Franke R. Plants grow better if seeds see green. *Naturwissenschaften*, 2006, Jul, 93(7), pp. 334-337.

Central Institute of Biomedical Engineering, University of Ulm, 89081 Ulm, Germany. samoan@gmx.net

Растения лучше растут и развиваются под влиянием зеленой области спектра видимого света. В статье сообщается об ответе сухих семян растений на облучение биостимулирующими дозами зеленого света. Как было показано ранее, красная и ближняя инфракрасная область спектра лазера или светового излучающего диода оказывала влияние на живые клетки, которое выражалось в быстром разрастании клеток и увеличении их жизнеспособности, что может быть использовано во многих областях биомедицины. Недавно было описано влияние зеленого спектра света на процессы роста, индуцируемые стимуляцией фоторецепторов (фитохромы и криптохромы) набухших от воды семян. В данной статье показано, что облучение сухих семян кресс-салата, редиса и моркови интенсивным зеленым светом (лазера или излучающего светодиода) в биостимулирующих дозах приводит к значительному увеличению биомассы на 14, 26 и 71 день после посева. Более того, у растений редиса и моркови происходили серьезные изменения в соотношении листовая поверхность – корнеплод. Семена с потенциальными способностями к ускоренному росту должны быть предметом особого интереса агрономической практики, т.к. могут компенсировать короткий период вегетации, являющийся результатом глобального изменения климата.

