

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УЧАСТИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ БАЗИЛИКА В КРОСС-АДАПТАЦИИ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ДЕЙСТВИИ УФ-В И ЗАСОЛЕНИЯ

В.И.М. Тоайма¹, Н.Л. Радюкина²,
Г.А. Дмитриева^{1,2}, Вл.В. Кузнецов^{1,2}

¹Кафедра ботаники, физиологии, патологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, 127276

На основании полученных данных можно сделать главный вывод о том, что обработка УФ-В в течение 10 мин. способствовала адаптации растений базилика к действию 100 мМ NaCl. Улучшение адаптационной способности базилика при совместном действии УФ-В и засоления и связано со стимулированием биосинтеза пигментов и низкомолекулярных антиоксидантов УФ-В облучением.

Ключевые слова: базилик *Ocimum basilicum L.*, УФ-В-радиация, пролин, супероксиддисмутаза, засоление

Введение. Понимание физиологических, биохимических и молекулярно-биологических механизмов адаптации растений к действию неблагоприятных факторов окружающей среды открывает новые возможности не только для создания устойчивых сортов культурных растений, но и помогает улучшать технологии выращивания лекарственных растений. В настоящее время механизмы адаптации изучаются на ограниченном числе модельных растений, что не отражает видоспецифичности защитных механизмов. Кроме того, особое место в изучении адаптационного процесса занимает вопрос о кросс-адаптации растений.

Под кросс-адаптацией понимают способность растения, обладающего устойчивостью к одному стрессору, адаптироваться к действию других или совместному действию нескольких стрессоров. Считается, что основой кросс-адаптации может служить антиоксидантная система защиты, функционирование которой показано практически при всех видах абиотических и биотических стрессоров [1].

Ранее нами было показано, что растения базилика *Ocimum basilicum L.* обладают хорошо функционирующей антиоксидантной защитной системой, позволя-

ющей им выдерживать действие умеренных доз УФ-В-облучения без видимых повреждений [2]. При этом основную роль в защитном ответе этого растения играли фенольные соединения, а также антоцианы и каротиноиды.

Полученные результаты позволили нам высказать предположение, что обработка низкими дозами УФ-В и активация при этом синтеза низкомолекулярных антиоксидантов может способствовать улучшению адаптационных возможностей базилика при совместном действии УФ-В-радиации и засоления.

Целью данной работы была проверка гипотезы о том, что активация УФ-В-облучением биосинтеза низкомолекулярных антиоксидантов позволит растениям базилика адаптироваться к действию хлорида натрия в концентрации 100 мМ в питательном растворе.

Методы. Объектом исследования были растения базилика *Ocimum basilicum* L. Растения выращивались на водной культуре с полной нормой питательной среды Джонсон в камере фитотрона при освещении люминисцентными лампами в течение 12 часов. Мощность освещения — 37,6 Вт/кв. м, температура воздуха — 23 и 16 °С (день/ночь), относительная влажность — 55/70% (день/ночь). В возрасте 4—5 настоящих листьев растения подвергали действию 100 мМ NaCl, комбинированному действию NaCl и УФ-В-облучения в различной последовательности: вариант 1 — обработка 100 мМ NaCl; вариант 2 — обработка 100 мМ NaCl и через 24 часа — 10 мин. УФ-В (12,3 Дж/кв. м) облучение; вариант 3 — 10 мин. УФ-В и через 24 часа добавление 100 мМ NaCl. Листья и корни фиксировали жидким азотом через 4, 12, 24 и 48 часов после обработки вторым фактором и хранили при –70 °С для анализа. В образцах определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [3], хлорофилла а и b, каротиноидов, антоцианов, фенолов, флавоноидов [2], совместимого метаболита пролина, активность антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПО), содержание белка [4].

Данные получены в трех биологических и трех аналитических повторностях. Обработка данных проведена методами математической статистики с использованием MS Excel 2003.

Результаты и обсуждение. Действие на растения базилика 100 мМ NaCl вызвало потерю тургора через 4 часа после добавления; растения сохраняли признаки увядания до конца экспозиции. В варианте 2 также наблюдалась потеря тургора, но растения восстанавливались после 10 мин. облучения УФ-В. В варианте 3 потери тургора не наблюдалось.

Результаты проведенных экспериментов показали, что повреждающее действие окислительного стресса (содержание МДА) и в листьях, и в корнях базилика в варианте 1 было незначительным (рис. 1). Облучение УФ-В в течение 10 мин. на фоне действия 100 мМ NaCl (вариант 2) снижало содержание МДА в листьях уже через 4 часа, а новое транзиторное повышение его содержания начиналось через 36 часов с последующим падением до уровня в два раза более низкого, чем в контроле (рис. 1 а). В корнях наблюдались незначительные изменения (рис. 1 б).

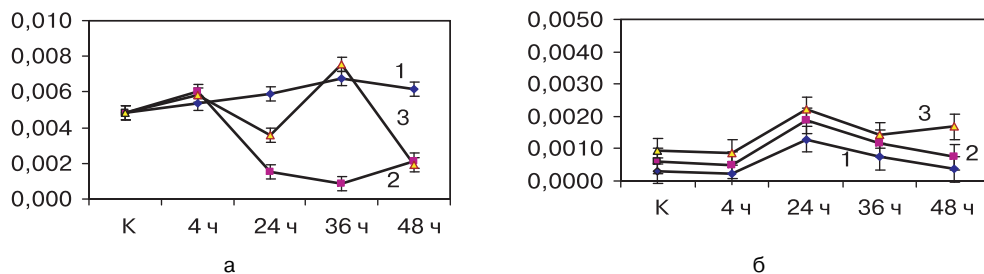


Рис. 1. Влияние УФ-В-облучения и NaCl на содержание МДА в листьях (а) и корнях (б) базилика

(по оси X — содержание МДА, мкмоль/г сырой массы; по оси Y — время экспозиции, час.; к — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

Результаты, полученные в варианте 3 (10 мин. УФ-В-облучения и затем добавление 100 мМ NaCl), показали еще большее падение содержания МДА в листьях и незначительные изменения содержания МДА в корнях. Таким образом, можно сделать вывод, что действие УФ-В-облучения снижало повреждающее действие засоления как при облучении до внесения 100 мМ NaCl, так и при облучении на фоне 100 мМ NaCl.

Ранее нами было показано, что устойчивость растений базилика к УФ-В-облучению определяется высоким содержанием пигментов (каротиноидов, антоцианов) [2], в связи с этим было важно выяснить динамику их содержания при комбинированном действии обоих изучаемых факторов. При действии 100 мМ NaCl содержание антоцианов в листьях незначительно повышалось через 36 час. экспозиции (рис. 2 а). При совместном действии УФ-В и хлорида натрия в вариантах 2 и 3 содержание антоцианов повышалось значительно (рис. 2 а).

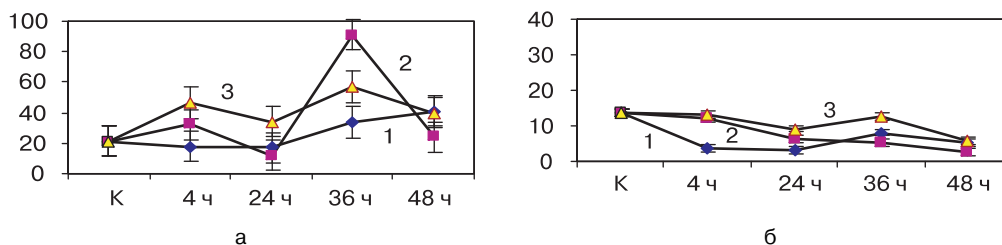


Рис. 2. Влияние УФ-В-облучения и NaCl на содержание антоцианов (а) и флавоноидов (б) в листьях базилика

(по оси X — содержание антоцианов или флавоноидов, мг/г сухой массы; по оси Y — время экспозиции, час.; к — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

Наибольшее транзитное увеличение содержания антоцианов наблюдалось в варианте 3 и было связано с действием УФ-В-облучения. Содержание флавоноидов в листьях имело тенденцию к снижению во всех вариантах, а содержание фенолов в листьях увеличивалось в вариантах с УФ-В-облучением (рис. 3 а, б).

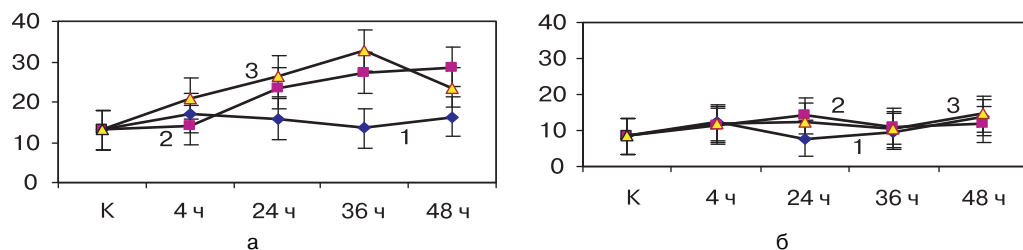


Рис. 3. Влияние УФ-В-облучения и NaCl на содержание фенолов в листьях (а) и корнях (б) базилика

(по оси X — содержание фенолов, мг/г сухого веса; по оси Y — время экспозиции, час.; К — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

Возможно, происходило окисление флавоноидов активными формами кислорода, что способствовало увеличению содержания фенолов. УФ-В-облучение, засоление и их совместное действие вызвали изменения в содержании хлорофилла а и b (рис. 4 а, б).

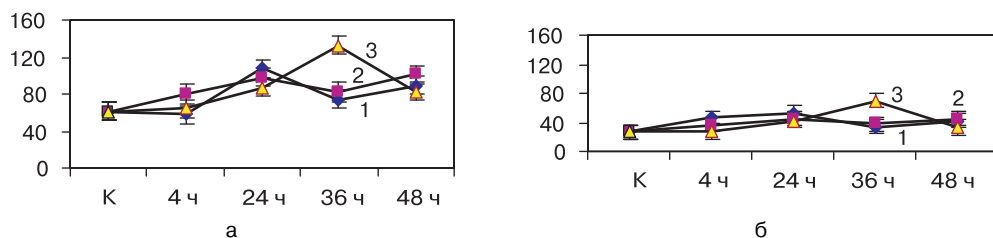


Рис. 4. Влияние УФ-В-облучения и NaCl на содержание хлорофилла а и b в листьях базилика

(по оси X — содержание хлорофилла а или b, мг/г сухой массы; по оси Y — время экспозиции, час.; К — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

Причем характер этих изменений был схож с таковым для каротиноидов (рис. 5). Следует отметить, что наиболее заметное активирование их биосинтеза происходило в варианте 2, т.е. было вызвано действием УФ-В-облучения. Динамика содержания каротиноидов имела тенденцию к повышению во всех трех вариантах эксперимента.

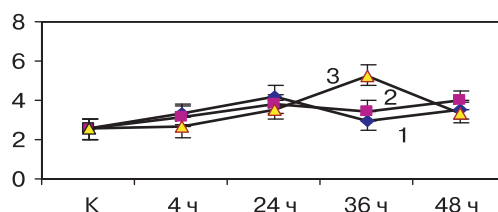


Рис. 5. Влияние УФ-В-облучения и NaCl на содержание каротиноидов в листьях базилика

(по оси X — содержание каротиноидов, мг/г сухой массы; по оси Y — время экспозиции, час.; К — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

Это свидетельствует об участии каротиноидов в защитном ответе на действие обоих факторов, но в большей степени на облучение УФ-В. Кроме того, их защитное действие помогало восстанавливать содержание хлорофиллов, синтез которых был нарушен при стрессе. Активность СОД и в корнях, и в листьях не зависела от вариантов, и ее снижение наблюдалось в первые сутки после обработки (рис. 6 а, б), при этом активность гваякол-зависимой ПО в листьях повышалась во всех вариантах опытов, а в корнях наблюдалось ее снижение, особенно в вариантах 2 и 3, очевидно, связанное с обработкой УФ-В (рис. 7 а, б).

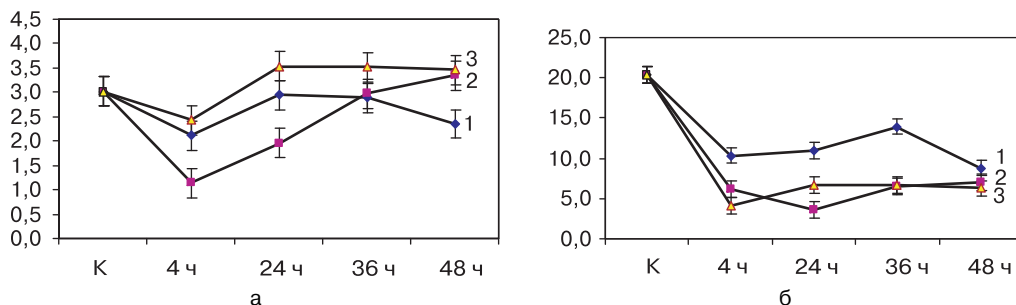


Рис. 6. Динамика активности СОД при действии УФ-В-облучения и NaCl в листьях и корнях базилика

(по оси X — активность СОД, ед. ак./мг белка; по оси Y — время экспозиции, час.; к — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

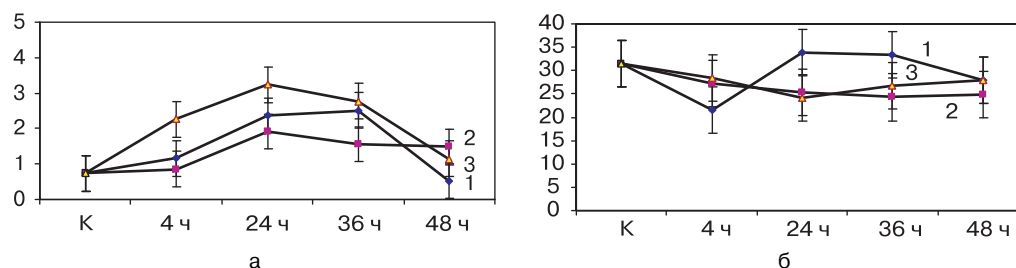


Рис. 7. Динамика активности пероксидазы при действии УФ-В-облучения и NaCl в листьях и корнях базилика

(по оси X — активность пероксидазы, ед. ак./мг белка; по оси Y — время экспозиции, час.; к — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

Возможно, что повышение активности пероксидазы связано с синтезом пероксида водорода в других метаболических реакциях, усиливающихся при УФ-В-облучении. УФ-В-облучение изменяло динамику содержания пролина, аккумуляция которого в варианте 1 (только 100 мМ NaCl) начиналась через 4 часа после начала эксперимента и достигала максимального значения через 48 часов.

УФ-В-облучение на фоне действия хлорида натрия (вариант 2) приводило к снижению содержания пролина в листьях. Восстановление его содержания до уровня контроля наблюдалось через 36 часов (рис. 8 а). В варианте 3 снижение содержания пролина было ниже, чем в остальных вариантах. В корнях никаких заметных изменений этого параметра не наблюдалось (рис. 8 б).

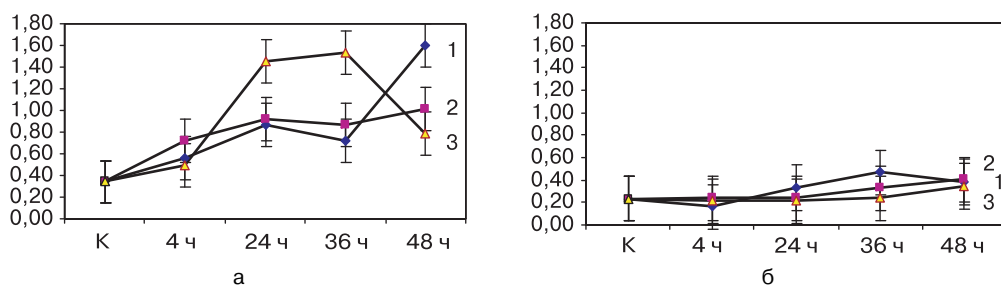


Рис. 8. Содержание пролина в листьях и корнях базилика при действии УФ-В-облучения и NaCl

(по оси X — содержание пролина, мкмоль / г сырой массы; по оси Y — время экспозиции, час.; К — контроль); 1 — 100 мМ NaCl, 2 — 100 мМ NaCl + 10 мин. УФ-В, 3 — 10 мин. УФ-В + 100 мМ NaCl

На основании полученных данных можно сделать главный вывод о том, что обработка УФ-В в течение 10 мин. способствовала адаптации растений базилика к действию 100 мМ хлорида натрия. Среди изменяющихся параметров, включающихся в адапционный ответ базилика на действие стрессора, можно выделить две группы. Первая включает низкомолекулярные вещества (пролин, каротиноиды, фенолы), которые аккумулируются при действии индивидуальных стрессоров и их комплекса. Вторая группа включает антоцианы, флавоноиды и другие пигменты, для которых характерна аккумуляция при УФ-В-облучении. Первой линией защиты от УФ-облучения являются пигменты, предотвращающие проникновение излучения в более глуболежащие ткани [5; 6]. В условиях УФ-стресса растения накапливают пигменты в различных компартментах клеток и структурах тканей. Накопление соединений, поглощающих в УФ-области спектра (фенольные соединения у высших растений), относится к универсальным механизмам фото-адаптации и защиты от фото-повреждения организмов [7]. Стимуляция биосинтеза пигментов УФ-В-облучением приводила к улучшению адапционных способностей базилика к действию хлорида натрия. Таким образом, антиоксидантные свойства этой группы веществ проявились и при совместном действии с засолением.

Следует отметить, что СОД ингибировалась в первые сутки обработки во всех вариантах. Это подтверждает высказываемую в последнее время гипотезу о том, что низкомолекулярные антиоксиданты во многих неблагоприятных условиях оказываются более эффективными, чем ферментативные системы [8]. Кроме того, динамика активности пероксидазы не коррелировала с динамикой активности СОД. Поскольку продуктом реакции с участием СОД является пероксид водорода, то можно предполагать, что повышенная активность пероксидазы связана с дезактивацией пероксида, образовавшегося в других метаболических реакциях. Возможно, образовавшийся пероксид водорода служит сигнальной молекулой для включения биосинтеза пигментов и низкомолекулярных антиоксидантов, что подтверждается литературными источниками [8; 9].

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция. — Физиология растений. — 1999. — Т. 46. — С. 321—336.

- [2] Тоайма В.И.М., Радюкина Н.Л., Дмитриева Г.А., Кузнецов Вл.В. Оценка антиоксидантного потенциала лекарственных растений при действии Уф-В облучения // Вестник РУДН. Серия «Агрономия и животноводство». — 2009. — № 4. — С. 12—21.
- [3] Курганова Л.Н., Веселов А.П., Гончарова Т.А., Симицына Ю.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты в хлоропластах гороха при тепловом шоке // Физиология растений. — 1997. — Т. 44. — С. 725—730.
- [4] Радюкина Н.Л., Шацуклова А.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений. — 2008. — Т. 55 — № 5. — С. 721—730.
- [5] Frohnmeyer H., Staiger D. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection // Plant Physiol. — 2003. — 133. — P. 1420—1428.
- [6] Mpoloka S.W. Effects of prolonged UV-B exposure in plants // African Journal of Biotechnology. — 2008. — № 7. — P. 4874—4883.
- [7] Costa H., Gallego S.M., Tomaro M.L. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons // Plant Sci. — 2002. — 162. — P. 939—945.
- [8] Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review // Ann. Bot. — 2003. — V. 91. — P. 179—194.
- [9] Cheeseman J.M. Hydrogen peroxide and plant stress: A challenging relationship / Plant Stress. — GlobalScience Books, 2007. — P. 1—15.

ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM PARTICIPATION IN CROSS-ADAPTATION OF *OCIMUM BASILICUM* TO COMPLEX ACTION OF UV-B AND SALINITY

W.I.M. Toaima¹, N.L. Radyukina²,
G.A. Dmitrieva^{1,2}, V.I.V. Kuznetsov^{1,2}

¹Department of botany, plant physiology, plant pathology and agrobiotechnology
Russian People's Friendship University
Miklucho-Maklay str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

²Timirjazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Science
Botanicheskaya str., 35, Moscow, Russia, 127276

The 10 min UV-B irradiation (12 dj/m²) and 100mM NaCl action on medical plants *Ocimum basilicum* L., grown in water culture, was studying. The plants treated by UV-B irradiation were more resistant to salinity. There were two groups of compounds. One — proline, carotinoids, phenols are accumulated under salinity conditions. Second group — pigments — antocyanans and flavones. Its biosynthesis is stimulated by UV-B irradiation. Under complex stressor action pigments were increased and this increasing helped plants to overcome the high salinity. The antioxidant enzyme superoxid dismutase did not play essential role in adaptive response. The low molecular weight antioxidants were more effective for formation of adaptation response. The peroxidase activity had not correlation with superoxid dismutase activity and we supposed that H₂O₂ could be result of other process and served as signal molecule.

Key words: *Ocimum basilicum* L., UV-B irradiation, proline, superoxid dismutase, NaCl action.