

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АСКОРБАТПЕРОКСИДАЗЫ ЛИСТЬЕВ ТОМАТА В УСЛОВИЯХ ПониЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР И ПОСЛЕ ИХ ДЕЙСТВИЯ

Т. С. Колмыкова, Э. Ш. Шаркаева

В статье рассматривается изменение активности конъюгированного фермента антиоксидантной системы – аскорбатпероксидазы – листьев томата разных сортов в условиях низких положительных температур и после их воздействия.

Ключевые слова: аскорбатпероксидаза, томат, сорт, активность, температура.

ACTIVITY OF ASCORBATE TOMATO LEAVES AT LOW TEMPERATURES AND AFTER THE ACTION

T. S. Kolmykova, E. S. Sharkaeva

The article examines changes in the activity of the antioxidante system, enzyme ascorbate peroxidase of tomato leaves of different breeds at low positive temperatures and after the effect. Activity of ascorbate peroxidase decreases with lowering of temperature.

Keywords: ascorbate peroxidase, tomato, variety, activity, temperature.

Растения реагируют на воздействие абиогических факторов и биопатогенов генерацией активированных форм кислорода, что сопровождается развитием в растениях признаков окислительного стресса [1]. Природа возникновения окислительного повреждения при стрессе до сих пор остается недостаточно изученной. Механизмы, посредством которых радикалы кислорода разрушают липидные мембраны и повреждают белки, в основном связывают с реакциями перекисного окисления. Сбалансированность перекисным окислением, с одной стороны, и антиоксидантной активностью – с другой, является необходимым условием для поддержания нормальной жизнедеятельности клетки. Любое внешнее воздействие вызывает усиление свободнорадикальных процессов и смещение равновесия в сторону активации перекисного окисления [3].

Для защиты от окислительного стресса растительные клетки содержат конъюгированные ферменты, динамика которых меня-

ется в зависимости от степени воздействия стресса [2]. Одним из таких ферментов является аскорбатпероксидаза (АПО), локализованная в хлоропластах, митохондриях, микротельцах и цитозоле. Она является основным ферментом, утилизирующим перекись водорода у растений [4].

Целью настоящего исследования стало изучение активности аскорбат-пероксидазы в листьях томата (*Lycopersicon esculentum* L.) сортов Подарочный, Патрис, Волгоградский в условиях низких положительных температур и после их действия.

Методика постановки эксперимента. Растения выращивали в лабораторных условиях в сосудах с почвой объемом 1 м³ до фазы 3–4-го листа. Температура выращивания составляла 24–25 °С, освещение люминесцентными лампами – 2 800 лк, влажность воздуха – около 80 %. Почва – среднесуглинистый деградированный чернозем. Полив осуществлялся по мере высыхания почвы. После достижения фазы 3-го настоящего

листа (возраст растений – 21 день) изменяли условия опыта: 1-я группа (контрольная) – растения выращивали при $t +25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2-я группа – растения выращивали при $t +10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3-я группа – при $t +3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Охлаждение продолжалось в течение трех суток. После охлаждения растения переносили в оптимальные температурные условия. Сразу после охлаждения у 24-дневных растений и спустя трое суток после него – у 27-дневных растений определяли активность аскорбатпероксидазы по методике Y. Nakano, K. Asada (1981 г.) с некоторыми модификациями. 1 г листьев растирали на холоде с 10 мл фосфатного буфера (рН 7,6), добавляли 0,3 г поливинилпирролидона, затем фильтровали и центрифугировали 10 мин при 12 000 g. Реакционную смесь составляли из 50,0 мкл 0,1 мМ ЭДТА, 50,0 мкл 0,05 мМ аскорбиновой кислоты, 50,0 мкл 0,1 мМ перекиси водорода, 2,25 мл фосфатного буфера (рН 7,6) и 300,0 мкл растительного экстракта, полученного после центрифугирования гомогената. Оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 290 нм против контроля без ферментного экстракта. Коррекцию неферментативного окисления аскорбата (в от-

сутствии перекиси водорода) не делали, так как оно не превышало 5 %. Для расчета активности АПО брали понижение оптической плотности за первые 30 сек. реакции с последующим расчетом активности в ммоль/г навески в 1 мин с использованием коэффициента молярной экстинкции, равной $2,8\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ [Там же].

Все определения проводили в двух отдельных опытах, каждый из которых состоял из трех биологических повторностей. Каждая биологическая повторность представляла усредненную навеску листьев с 6–8 растений. Статистическую обработку проводили на компьютере с использованием программы Microsoft Office 2003. Значения в таблицах – среднее арифметическое из всех опытов с их стандартными ошибками.

Результаты исследований показали, что при понижении температуры до $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ в листьях 24-дневных растений томата сорта Подарочный активность АПО увеличилась в более чем 2 раза по сравнению с контролем. При действии температуры $+3\text{ }^{\circ}\text{C}$ активность изучаемого нами фермента превышала контрольные значения уже почти в 4 раза (таблица).

Таблица

Влияние пониженных температур на активность аскорбатпероксидазы у растений томата,
ммоль/г ткани, мин

Температурный вариант	Возраст растений	Сорт		
		Подарочный	Патрис	Волгоградский
25 °C	24 дн.	0,022±0,002	0,019±0,001	0,016±0,002
	27 дн.	0,040±0,002	0,019±0,001	0,018±0,002
10 °C	24 дн.	0,051±0,002	0,021±0,002	0,021±0,002
	27 дн.	0,073±0,002	0,031±0,002	0,035±0,002
3 °C	24 дн.	0,088±0,002	0,045±0,002	0,041±0,003
	27 дн.	0,098±0,003	0,056±0,002	0,060±0,002

У растений сорта Патрис при температуре до $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ активность АПО увеличилась в меньшей степени по сравнению с предыдущим сортом на 11 % относительно контроля. Выдерживание растений при $t +3\text{ }^{\circ}\text{C}$ привело к увеличению значения активности АПО почти в 2,5 раза по сравнению с контролем.

У сорта Волгоградский отмечалась сходная картина: при понижении температуры до $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ активность АПО увеличивалась на 31 % по сравнению с контролем. При помещении растений в более низкотемпературные условия ($3\text{ }^{\circ}\text{C}$) активность АПО была в 2,5 раза выше по сравнению с контролем.

В контрольном варианте у 27-дневных растений всех сортов при увеличении продолжительности вегетации происходило увеличение активности фермента в 2 раза. В последствии низкотемпературного стресса активность аскорбатпероксидазы продолжала уменьшаться. После воздействия $t +10\text{ }^{\circ}\text{C}$ у растений выше указанного возраста сорта Подарочный активность АПО увеличилась в 3 раза по сравнению с контролем. После действия $t +3\text{ }^{\circ}\text{C}$ через трое суток у листьев томата активность АПО увеличилась в большей степени, чем в момент действия этой температуры – почти в 4,5 раза по сравнению с неохлажденными растениями.

У листьев 27-дневных растений сорта Патрис в контрольном варианте значения АПО по сравнению с 24-дневными растениями не изменились. В последствии температурного стресса ($10\text{ }^{\circ}\text{C}$) активность АПО увеличилась на 63 % по сравнению с контролем. После действия более низкой температуры ($3\text{ }^{\circ}\text{C}$) активность АПО увеличилась в 3 раза по сравнению с контролем.

У 27-дневных растений сорта Волгоградский в контрольном варианте по мере продолжительности вегетации происходило незначительное увеличение уровня активности АПО. Однако, в последствии низкотемпературного стресса активность аскорбатпероксидазы резко увеличивалась. В последствии $t +10\text{ }^{\circ}\text{C}$ активность фермента увеличилась в 2 раза. Через трое суток после воздействия $t 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ активность АПО увеличилась в 3 раза по сравнению с контрольными растениями.

Анализ полученных результатов показал, что фермент аскорбатпероксидаза вносит определенный вклад в репарацию растений томата в ходе окислительного стресса, который был спровоцирован стрессовыми температурами. При этом по мере снижения температурного воздействия на растения повышалась активность аскорбатпероксидазы.

У неохлажденных растений наблюдали небольшие различия по активности данного фермента между изученными сортами. Однако при этом в листьях томата сорта Подарочный активность АПО была максимальной. При действии пониженных положительных температур у всех сортов было отмечено увеличение активности АПО как при действии стресса, так и после него. В целом у 24-дневных растений активность фермента увеличилась в 1,5–2,0 раза при действии $t +10\text{ }^{\circ}\text{C}$ и в 2,5–4,0 раза при действии $t +3\text{ }^{\circ}\text{C}$ по сравнению с контролем. В последствии охлаждения активность АПО превышала аналогичные показатели у 27-дневных растений в 2–3 раза при $t +10\text{ }^{\circ}\text{C}$ и в 3,0–4,5 раза при $t +3\text{ }^{\circ}\text{C}$ по сравнению с контролем. Возможно, в этот период в растениях томата усиливался синтез изоформ АПО, направленный на снижение концентрации перекисей и защиту от окислительного стресса. Особенно заметное воздействие было отмечено у растений томата сорта Подарочный, что является показателем большей устойчивости этого сорта к пониженным температурам.

Таким образом, увеличение активности аскорбатпероксидазы при охлаждении растений томата связано с развитием окислительного стресса, который, в свою очередь, приводит к развитию холодого повреждения.

В последствии низкотемпературного стресса прослеживалась тенденция к дальнейшему увеличению активности антиоксидантного фермента. По мере снижения температуры охлаждения повышалась активность АПО. Это может быть связано с тем, что фермент высокоспецифичен к аскорбату и быстро теряет активность в его отсутствие. Возможно, действие низких температур на растения обуславливает накопление в них значительного количества аскорбата. При этом различия в реакциях АПО на действие пониженных температур различных сортов томата объясняются их структурно-функциональными особенностями.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. **Карташов А. В.** Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации дикорастущих видов растений / А. В. Карташов, Н. И. Шевяков, В. В. Кузнецов // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 4. – С. 516–522.

2. **Колмыкова Т. С.** Активность супероксиддисмутазы растений томата при изменении температурных режимов / Т. С. Колмыкова, Е. В. Клокова, Э. Ш. Шаркаева // Сб. науч. тр. SWorld. : материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Научные исследования и их практическое применение. Современное состояние и пути развития 2012». – Одесса, 2012. – Т. 31. – С. 68–70.

3. **Курганова Л. Н.** Продукты перекисного окисления липидов как возможные посредники между взаимодействием повышенных температур и развитием стресс-реакции у растений / Л. Н. Курганова, А. И. Веселов, Ю. В. Сеницына // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 218–222.

4. **Лукаткин А. С.** Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений : Активность антиоксидант. ферментов в динамике охлаждения / А. С. Лукаткин // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 6. – С. 878–885.

Поступила 05.04.2013 г.

УДК 581.1 : 633.15 : 661.162.6

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА РИБАВ-ЭКСТРА И ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ

Э. Ш. Шаркаева, Т. С. Колмыкова

В статье раскрывается действие препарата Рибав-экстра на активность каталазы и аскорбатпероксидазы в листьях растений кукурузы в условиях низкотемпературного стресса.

Ключевые слова: Рибав-экстра, кукуруза, каталаза, аскорбатпероксидаза.

IMPACT OF THE RIBAV-EXTRA AND LOW TEMPERATURES ON THE ENZYMATIC ACTIVITY OF MAIZE PLANTS

E. S. Sharkaeva, T. S. Kolmykova

We studied the impact of the Ribav-Extra on activity of catalase and ascorbate peroxidase in the leaves of maize plants under the conditions of low-temperature stress. It was revealed that activity of enzymes decreases under the impact of low temperature. Growth regulator affects activity of enzymes during cooling if there is pre-treatment of maize seed. Enzyme activity has depended on the Ribav-Extra concentration. Recovery of enzyme activity have been observed after termination of cooling. 10^{-6} % and 10^{-7} % Ribav-Extra concentrations are the most effective.

Keywords: Ribav-Extra, maize, catalase, ascorbate peroxidase.

В последнее время при возделывании сельскохозяйственных культур все большее внимание уделяется приемам, с помощью которых можно повысить их

устойчивость к неблагоприятным факторам среды. К таким приемам относится обработка растений или их семян регуляторами роста.

© Шаркаева Э. Ш., Колмыкова Т. С., 2013