

Защита Фотосинтетических Пигментов Проростков Пшеницы Антиоксидантами Растительного Происхождения При Действии Cd²⁺

С.Б. Дадашева, И.М. Курбанова

Институт ботаники НАН Азербайджана, Бадамдарское шоссе, 40, Баку AZ 1073, Азербайджан;
E-mail: nigaragayeva0@gmail.com

Исследована защита фотосинтетической мембраны пшеницы (*Triticum aestivum* L.) от повреждающего действия ионов Cd²⁺ экстрактами некоторых растений, произрастающих в Азербайджане. Сняты инфракрасные спектры спиртовых экстрактов листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*), корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) и листьев реликтового растения *Danae racemosa*. Во всех исследованных растениях инфракрасные спектры указывают на валентные колебания ассоциированных ОН-групп, обеспечивающих защиту изучаемых форм хлорофилла.

Ключевые слова: Растения, фотосинтетическая мембрана, тяжелые металлы, стресс, активные формы кислорода, антиоксидант.

ВВЕДЕНИЕ

Поступление в окружающую среду тяжелых металлов (ТМ) приводит к загрязнению почв, отсюда ТМ поглощаются растениями. Это вызывает серьезные нарушения на уровне клетки, организма, популяции (Башмаков, Лукаткин, 2009). Исследования последних десятилетий показали, что независимо от природы воздействия, ответ растения на стресс развивается по общей схеме, что позволяет говорить о неспецифической стрессовой реакции на воздействие извне (Креславский и др., 2007; Mittler, 2002), т.е. окислительный стресс. Повышенный уровень ТМ может вызвать образование активных форм кислорода (АФК) или как некоторые исследователи называют реактивные формы кислорода (РФК) – супероксидного анион-радикала (O₂^{•-}), гидроксильного радикала (•OH), синглетного кислорода (¹O₂), перекиси водорода (H₂O₂) (Башмаков, Лукаткин, 2009; Boominathan, Dogan, 2002; Gajewska, Sklodowska, 2007). В ответ на окислительный стресс в растениях активизируется система антиоксидантной защиты (АОС), запускающая работу низкомолекулярных и высокомолекулярных антиоксидантов. Среди них каротиноиды, восстановленный глутатион, бетаины и основные антиоксидантные ферменты – супероксид-дисмутаза и каталаза. Некоторые авторы (Малева и др., 2012; Бурлакова, 2007) относят к АОС металлотионеины и фитохелатины, которые способны не только связывать избыток ТМ, но и участвовать в нейтрализации токсических радикалов. Например, типичные симптомы повреждающего действия ионов Cd²⁺ – хлороз, замедление роста растений, наблюдаемое в загрязненной среде, свидетельствует о

том, что замедление роста без синтетических путей являются ранними мишенями влияния ТМ на метаболизм растений. Подобное явление проявилось при развитии проростков и при росте новых листьев, когда происходит активный синтез пигментов. Ингибирование биосинтеза пигментов (Prasad, Strzalka, 2002; Mysliwa-Kurczak, Strzalka, 2002) является первичным явлением в растении при стрессе, вызванном ТМ. И как следствие, задержка в сборке фотосинтетического аппарата, снижение фотосинтетической эффективности, замедление роста растений и уменьшение образования биомассы. Таким образом, ТМ могут быть серьезной проблемой, так как снижают выход урожая и качество продукции.

Одним из важных классов природного растительного сырья являются растения с преобладанием фенольных соединений (Артюхов и др., 2008). Структура природных фенольных соединений многообразна, что влияет на их метаболизм. Фенольные группы природных антиоксидантов широко распространены в мире растений и очень эффективно нейтрализуют свободные радикалы. Нами исследованы антиоксидантные свойства спиртовых экстрактов листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*), корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) и листьев реликтового растения *Danae racemosa*, которые повышают содержания Хл *a* и Хл *b* фотосинтетической мембраны 7-дневных проростков пшеницы при действии Cd²⁺.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили 7 дневные растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Кавказ. Растения выращивали в водной среде. На

7-й день растения пшеницы помещали на 24 часа в раствор $CdCl_2$ ($10^{-3}M$) и экстракты испытуемых растений (5 $\mu g/ml$) при различных pH среды (4,5; 6,8; 9,0). Спектры поглощения Хл были сняты на спектрофотометре СФ-14. Количество Хл определяли по величине поглощения при длинах волн Хл a – 663 нм, 680 нм, Хл b – 645 нм. Проведен скрининг спиртовых экстрактов высушенных растений: листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*) с преобладанием сапонинов (урсоловой, олеаноловой кислот, каротина, витамина С) (Керимов, 1982), корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) с преобладанием сапонина-глицирризина (Дамиров и др., 1983) и листьев *Danae racemosa* с преобладанием каротиноидов (Керимов, 1982; Dadasheva et al., 1990). Экстракция измельченного материала производилась 95% этанолом в течение 7 дней. Средние значения отклонения рассчитывали на основе 3-х кратных анализов. Антиокислительную активность спиртовых экстрактов определяли по отношению к стабильному радикалу в реакции DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Dadaşova və b., 2012). Окислительную способность образца определяли по компьютерной программе Perella Scientific Ins., Amherst USA. Инфракрасные спектры (ИК) экстрактов защищающих растений сняты на ИК – Фурье – спектрофотометре фирмы 640 FTIR (Agilent Tech., USA) – и в виде тонких пленок. С этой целью использовали подложки КВг. Спектры снимались в диапазоне длин волн $4000-400\text{ см}^{-1}$ (Серкерова, Алескерова, 2006).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены исследования действия защитных свойств экстрактов на содержание фотосинтетических пигментов Хл a и Хл b , подвергнутых действию Cd^{2+} . Показано, что при повышенных концентрациях Cd^{2+} при различных значениях pH среды содержания Хл a и Хл b уменьшается по сравнению с контролем. Так, если в контрольном варианте при pH 4,5 содержание Хл a составляло 0,86 $\mu g/ml$, а Хл b – 0,65 $\mu g/ml$, то при воздействии ионов Cd^{2+} содержание Хл a уменьшалось до 0,08 $\mu g/ml$, Хл b до 0,03 $\mu g/ml$. Добавление в среду экстрактов листьев шалфея, корня солодки и листьев *Danae racemosa* способствовали увеличению содержания пигментов: экстракта шалфея Хл a – 1,0 $\mu g/ml$, а Хл b – 0,85 $\mu g/ml$, с экстрактом корня солодки Хл a – 0,84 $\mu g/ml$, Хл b – 0,80 $\mu g/ml$, а с экстрактом *Danae racemosa* - Хл a до 0,42 $\mu g/ml$, а Хл b до 0,37 $\mu g/ml$. Полученные результаты при pH 6,8 показали, что в отличие от кислой среды формы Хл a и Хл b хорошо защищаются

экстрактами шалфея и *Danae racemosa*. В этой среде экстракт корней солодки имеет незначительную защиту. В щелочной среде (pH 9,0) все экстракты проявляли защитные свойства обеих форм Хл по сравнению с контролем.

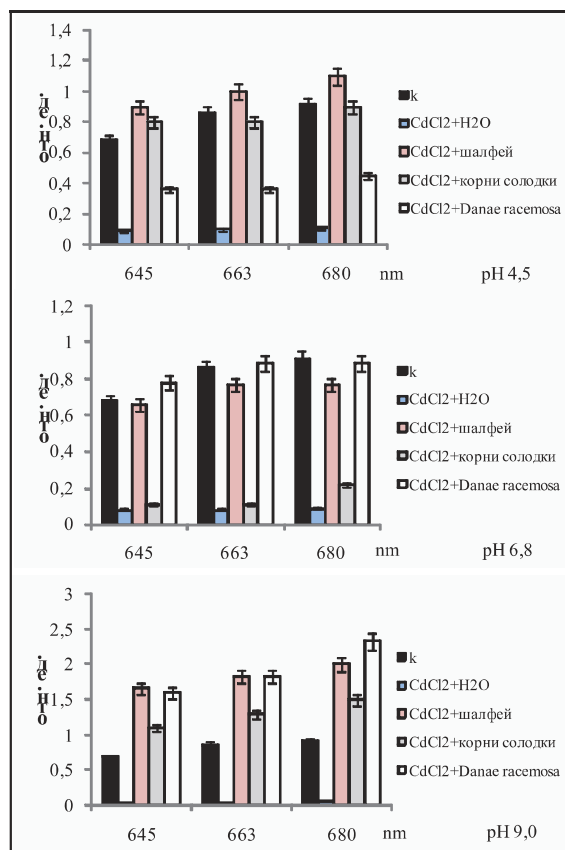


Рис. 1. Действие ионов Cd^{2+} на формы Хл a (663 и 680 нм) и Хл b (645 нм) при различных pH среды в течение 24 часов на 7 дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и защита их экстрактами - листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*), корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) и листьев реликтового растения *Danae racemosa*.

На рис. 2, представлены ИК-спектры используемых нами в работе растительных экстрактов.

Интерпретация ИК-спектров изучаемых образцов показала наличие:

- валентных колебаний ассоциированных ОН-групп для листьев шалфея в области 3365 см^{-1} , корней солодки в области 3352 см^{-1} , листьев *Danae racemosa* в области 3376 см^{-1} ;
- валентные колебания ароматических (С-С)-связей для листьев шалфея в области $1650, 1453\text{ см}^{-1}$, для корней солодки в области $1649, 1656\text{ см}^{-1}$, для листьев *Danae racemosa* в области 1383 см^{-1} ;
- деформационных колебаний ароматических (С-Н) связей для листьев шалфея в

области 880-713 см^{-1} , для корней солодки в области 880, 751, 703, 716, для листьев *Danae racemosa* в области 880, 707 см^{-1} ;

–валентные колебания карбонильной группы для листьев шалфея в области 1650 см^{-1} , для корней солодки в области 1762, 1750, 1656 см^{-1} (это могут быть карбонильные соединения, сложные эфиры, карбоновые кислоты), для листьев *Danae racemosa* в области 1650 см^{-1} ;

–валентные колебания (С-О-С) связей для листьев шалфея в области 1086, 1047, 1273 см^{-1} , для корней солодки в области 1274, 1047, 1084, для листьев *Danae racemosa* в области 1047, 1383 см^{-1} .

Появление широкой интенсивной полосы поглощения для листьев шалфея в области 3589 см^{-1} , корней солодки в области 3307 см^{-1} , листьев реликтового растения *Danae racemosa* в области 3376 см^{-1} в спектре исследованного образца может быть обусловлено наличием либо кристаллизационной воды при 3600-3100 см^{-1} , либо соединений, ассоциированных за счет водородных связей. В то же время появление широкой полосы в области 3400 см^{-1} может свидетельствовать об образовании водородных связей в ассоциатах фенольных соединений, которые, как правило, и дают сильную широкую полосу при 3400-3000 см^{-1} за счет валентных колебаний гидроксила (Артюхов и др., 2008).

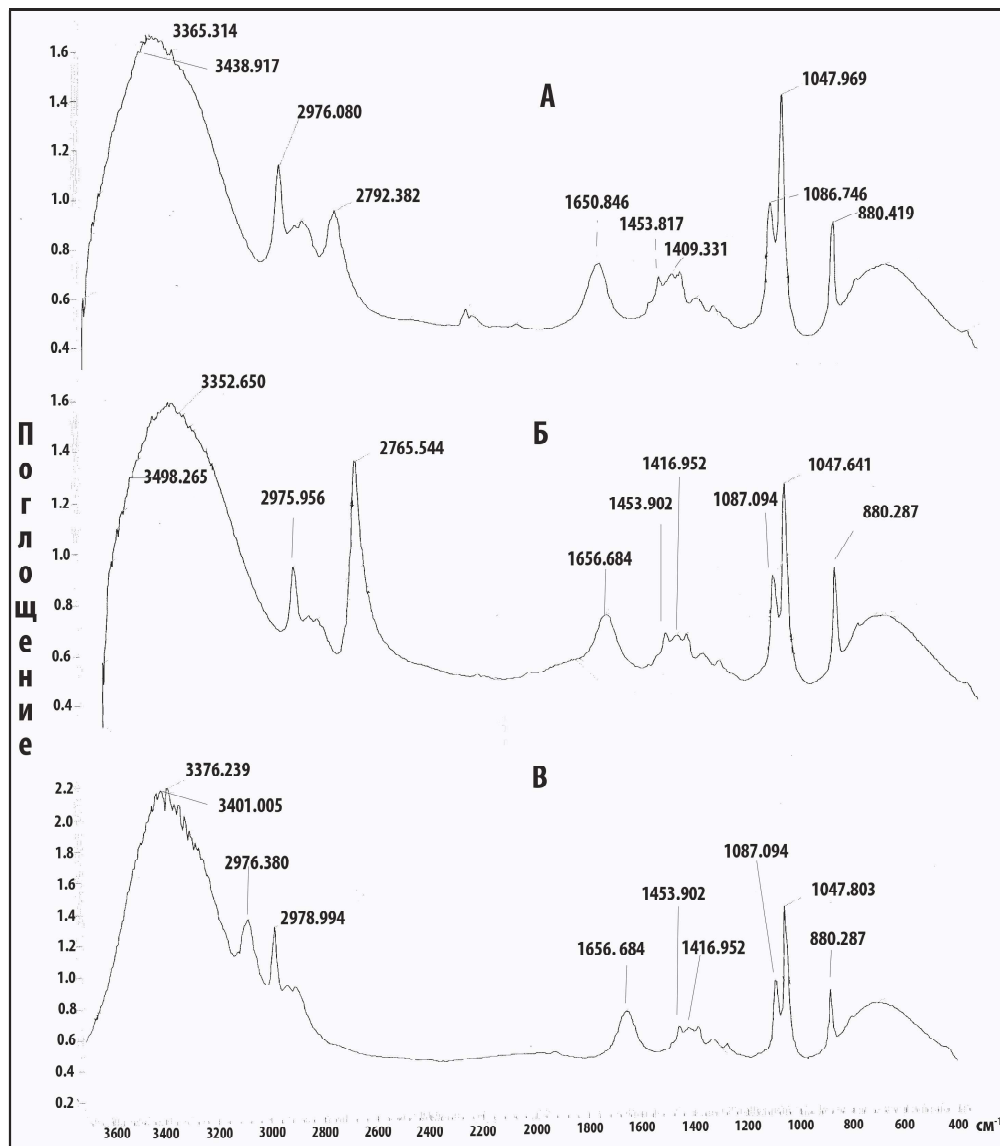


Рис 2. ИК-спектры экстрактов листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*) - А, корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) - Б, листьев реликтового растения *Danae racemosa* - В.

Ей соответствует интенсивная полоса поглощения с максимумом при 1410 см^{-1} , отнесенная к деформационным колебаниям связи ОН в фенольных соединениях.

Делается вывод, что фенольные соединения входят в состав защищающих экстрактов, о чем свидетельствуют данные ИК-спектров, а именно валентные колебания: ароматических (С-С)-связей, ассоциированных ОН-групп обеспечивающих защиту фотосинтетических пигментов Хл *a* и Хл *b* при окислительном стрессе, вызванном Cd^{2+} .

БЛАГОДАРНОСТЬ

Выражаем благодарность за интерпретацию ИК-спектров защищающих растений Серкерову Сираджеддину Вели оглу, заслуженному деятелю науки, глав. науч. сотр. Отдела раст. ресурсов д.х.н., проф. Института ботаники НАН Азербайджана. Также выражаем благодарность за техническое оформление статьи нашему сотруднику Агаевой Нугяр.

ЛИТЕРАТУРА

- Dadaşova S.B., Hüseyinli İ.Ş., Nəşənova D.Ə., Qurbanova İ.M., Abdullayev X.D., Nəşənov R.Ə.** (2012) Bir sıra bitki ekstraktlarının antioksidant və antiradikal aktivliyinin təyini. *AMEA-nın Xəbərləri*, **67(1)**: 133-138
- Артюхов О.В., Лапина З.П., Хипеняк С.Д., Белоцерковец Н.И.** (2008) ИК-спектроскопическое исследование экстрактов фенольных соединений проростков льна. *Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология»* (Тверь), **7(67)**, вып. 7: 61-63.
- Башмаков Д.И., Лукаткин А.С.** (2009) Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений. *Под общ. ред. проф. А. С. Лукаткина*. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та: 236.
- Бурлакова Е.Б.** (2007) Биоантиоксиданты. *Рос. Хим. Ж.*, **LI (1)**: 3-12.
- Дамиров И.А., Прилипко Л.И., Шукюров Д.З., Керимов Ю.Б.** (1983) Лекарственные растения Азербайджана. Баку: Маариф, 116 с.
- Керимов Ю.В.** (1982) Полезные свойства растений из флоры Азербайджана. *Известие НАНА, серия биологическая 1*: 16-21.
- Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И.** (2007) Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу. *Биол. мембраны*, **24 (3)**: 195-217.
- Малева М.Г., Некрасова Г.Ф., Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Ушакова О.С.** (2012) Влияние тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат и антиоксидантный статус элодеи. *Физиология растений*, **59 (2)**: 216-224.
- Серкеров С., Алескерова А.** (2006) Инфракрасные спектры и строение сесквитерпеновых лактонов и кумаринов. Посвящается к 70-летию Ин-та Ботаники НАНА. Баку: CBS Production, 3-214.
- Boominathan R., Doran P.M.** (2002) Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*. *New phytologist*, **156**: 205-215.
- Dadasheva S.B., Kurbanova I.M., Varfolomeev S.D. and Gasanov R.A.** (1990) Photodestruction of Isolated Chlorophyll-Protein Complexes of Thylakoids. *Photosynthetica*, **24 (2)**: 280-282.
- Gajewska E., Skłodowska M.** (2007) Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *Biometals*. **20**: 27-36.
- Mittler R.** (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, **7(9)**: 405-410.
- Mysliwa-Kurczel B., Strzalka K.** (2002) Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments. In: *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants* (eds.: Prasad M.N.V., Strzalka K.). **Chapter 8**: 201-226.
- Prasad M.N.V., Strzalka K. (eds.)** (2002) Heavy Metal Influence on the light phase of photosynthesis. *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. **Chapter 9**: 229-255.

**Buğda Cücərtilərini Fotosintetik Piqmentlərinin Bitki Mənşəli
Antioksidantlarla Cd²⁺ Təsirindən Müdafiəsi**

S.B. Dadaşova, İ.M. Qurbanova

Azərbaycan MEA Botanika İnstitutu

Tədqiqatlarda Cd²⁺ təsirindən buğdanın (*Triticum aestivum* L.) zədələnmiş fotosintetik membranının Azərbaycanda bitən bəzi bitki ekstraktları ilə müdafiəsi tədqiq olunub. Adaçayı yarpaqlarının (*Folia Salvia officinalis*), şirin biyan kökünün (*Radix glycyrrhizae*) və relik bitki *Danae racemosa* yarpaqlarından alınmış ekstraktların infraqırmızı spektrləri çəkilmişdir. Bütün tədqiq olunan bitkilərin infraqırmızı spektrləri öyrənilən xlorofil formalarının müdafiəsini təmin edən assosiasiya olunmuş OH qruplarının valent rəqslərini göstərir.

Açar sözlər: *Bitkilər, fotosintetik membran, ağır metallar, stress, oksigenin fəal forması, antioksidantlar*

**Protection Of Photosynthetic Pigments Of Wheat Seedlings By Antioxidants
Of Natural Origin Under Action Of Cd²⁺**

S.B. Dadasheva, I.M. Kurbanova

Institute of Botany, Azerbaijan NAS

Protection of photosynthetic pigments of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) from harmful effects of Cd²⁺ by extracts of some plants growing in Azerbaijan was investigated. The infrared spectrum of extracts of Salvia leaves (*Folia Salvia officinalis*), roots of liquorice (*Radix glycyrrhizae*) and leaves of relict plant *Danae racemosa* were recorded. The infrared spectrum of all used plants was found to indicate on valence vibration of associated OH-groups, providing protection of analyzed pigments.

Keywords: *Plants, photosynthetic membrane, heavy metals, stress, active forms of oxygen, antioxidants*