

## РАСТИТЕЛЬНЫЕ ЭКСТРАКТЫ В ЗАЩИТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Дадашева С.Б., Курбанова И.М.

Институт ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана,  
Бадамдарское шоссе, 40, г. Баку, 1004, Азербайджан; e-mail: sevil\_fotosintez@mail.ru  
Поступила в редакцию: 14.07.2021

**Аннотация.** Проведены сравнительные исследования фотосинтетических пигментов в листьях семидневных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.), подвергнутых в течение 24 часа действию токсических ионов солей  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{CuSO}_4+\text{NaCl}$ . Определены протекторные свойства экстрактов корней солодки (*Radix glycyrrhizae*), листьев шалфея *Folia Salvia officinalis*) при данных стрессах. Показано, что образующийся при окислительном стрессе реактивные формы кислорода, уменьшали содержание хлорофиллов (Хл  $b_{645}$  и Хл  $a_{680}$ ). Обработка стрессовых проростков экстрактами восстанавливала поглощающую способность обоих пигментов. Можно предположить, что исследуемые экстракты обладают антиокислительными свойствами и способны тушить реактивные формы кислорода, образующейся при действии стрессоров.

**Ключевые слова:** хлорофилл *a* и *b*, тяжелые металлы, окислительный стресс, реактивные формы кислорода, антиоксиданты.

### ВВЕДЕНИЕ

Исследования последних десятилетий показали, что независимо от природных факторов, ответ растения на стресс развивается по общей схеме, что позволяет говорить о специфической стрессовой реакции на воздействие извне [1, 2]. Повышенный уровень тяжелых металлов (ТМ) может вызвать образование реактивные формы кислорода (РФК) – супероксидного анион-радикала ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), гидроксильного радикала ( $\cdot\text{OH}$ ), синглетный кислорода ( $^1\text{O}_2$ ), перекис водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) [3-5]. 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. Относящиеся к АОС металлотионеины и фитохелатины способны не только связывать избыток ТМ, но и участвовать в нейтрализации токсических радикалов, которые разрушают макромолекулы и клеточные структуры [6, 7]. Высокие концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  могут катализировать образование гидроксил радикала,  $\cdot\text{O}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Эта катализируемая  $\text{Cu}$  реакция протекает в основном в хлоропластах. Избыток  $\text{Cu}^{2+}$  также уменьшает содержание фотосинтетических пигментов влияя на их синтез. Гидроксил радикал может привести к перекисному окислению ненасыщенных липидов мембран хлоропластов. Этот ингибиторный механизм может дать начало наблюдаемому ингибированию электронного транспорта при избытке  $\text{Cu}^{2+}$  [5]. Ингибирование биосинтеза пигментов [8] является первичным явлением в растении при стрессе, вызванном ТМ. Избыток  $\text{Cu}^{2+}$  приводит к инактивации Rubisko и фосфоэтанолпируват карбоксилазы (PEPC) путем взаимодействия с SH-группами. Кроме того, редокс активные ионы  $\text{Cu}$  вызывают липидное переокисление в мембране [9], что в дальнейшем приводит к серьезным нарушениям тилакоидов. Взаимодействие между избытком меди и фотосинтезом изучается давно, но механизм его токсического действия все еще остается предметом дискуссий. Уменьшение содержания хлорофилла (Хл), которое часто наблюдается в растениях, экспонированных на высокие концентрации меди, может быть объяснено инактивацией дегидратазы аминоклевуленовой кислоты [10]. Высокие концентрации соли провоцируют осмотический и ионный стресс. Избыточное накопление ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  приводит к ионному стрессу и к обезвоживанию клеток, и к потере тургора. Происходит активизация ферментов, снижение скорости метаболических процессов, прежде всего фотосинтеза [11]. Данные о белковом составе мембран тилакоидов при действии  $\text{NaCl}$  несколько противоречивы: одни исследователи указывают на количественное уменьшение или увеличение ряда полипептидов, другие – на синтез новых (шоковых) белков [12, 13]. Скорость выделения кислорода в обоих случаях снижалась линейно с возрастанием концентрации  $\text{NaCl}$ . В более поздних работах было показано, что при  $\text{NaCl}$ -стрессе особенно разрушается белок 23 кДа кислородвыделяющего комплекса (КВК) ФС 2 частиц, который, как предположили авторы, является ключевым компонентом в солеустойчивости тилакоидных мембран [14]. Известно также, что избыток  $\text{NaCl}$  приводит к уменьшению содержания хлорофилла (Хл) и падению активности ФС 2 [15]. Действие  $\text{NaCl}$  вызывает в растениях снижение фотосинтетической активности, связанной с нарушением структуры мембран тилакоидов и снижением активности ФС II. Основной причиной повреждения активности ФС II является, вызываемой действием  $\text{NaCl}$ , окислительный стресс и образование активных форм кислорода (АФК) [16]. Ряд ученых внесли существенный вклад в исследование антиоксидантных свойств у растений, содержащих соединения, относящихся к различным классам фитохимических компонентов способных скавинджировать свободные радикалы [17, 18].

## МАТЕРИАЛЫ МЕТОДЫ

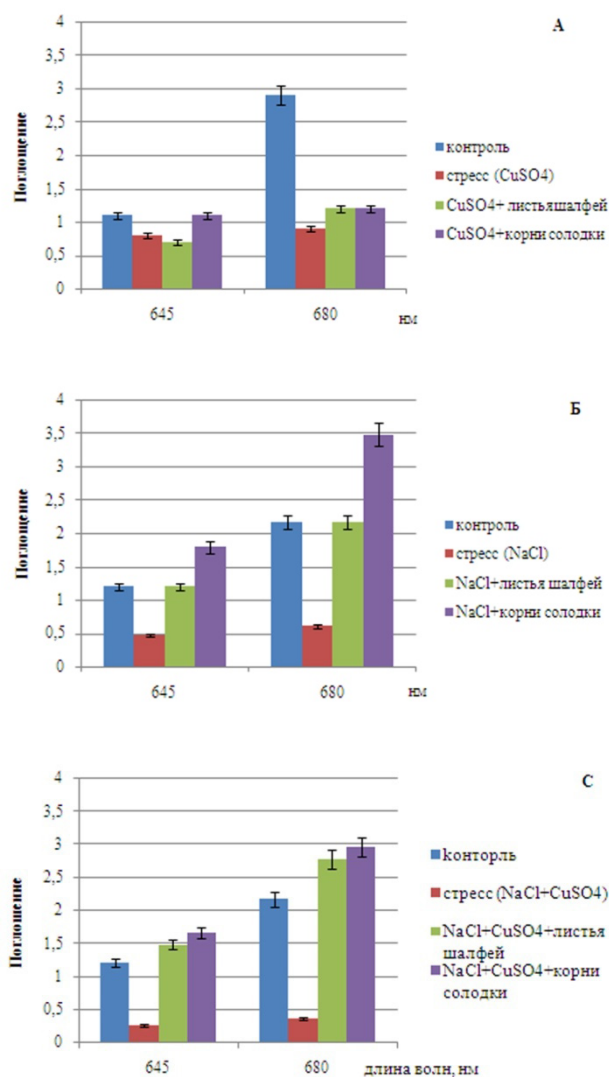
Объектом исследований служили 7-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Растения выращивали в водной среде. На 7-й день проростки помещали на 24 часа в растворы содержащие ( $10^{-3}$ М)  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  и  $\text{CuSO}_4+\text{NaCl}$ . Полученные экстракты из листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*) и корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) ( $5\mu\text{г}/\text{мл}$ ) добавляли в среду выращивания испытуемых проростков. Исследование проводили при pH 6,8.

Содержание пигментов Хл *a* и *b* определяли по спектрам поглощения при длинах волн: Хл  $a_{680}$  нм, Хл  $b_{645}$  нм снятых на спектрофотометре фирмы Cary 50 Scan Varian при комнатной температуре.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ спектров поглощения показал, что как действие  $\text{Cu}^{2+}$ , так и соли  $\text{NaCl}$  приводят к снижению содержания хлорофилла - Хл  $a_{680}$  и Хл  $b_{645}$  по сравнению с контролем. Наблюдалось уменьшение содержания хлорофилла через 24 часа действие  $\text{Cu}^{2+}$  Хл  $b_{645}$  на 37%, Хл  $a_{680}$  на 64%. Действие соли  $\text{NaCl}$  уменьшало количество Хл  $b_{645}$  на 38%, Хл  $a_{680}$  на 73%. В условии двойного стресса ( $\text{CuSO}_4+\text{NaCl}$ ) количество пигментов уменьшалась; Хл  $b_{645}$  на 83%, Хл  $a_{680}$  на 85% по сравнению с контролем (рис. 1).

Добавление экстрактов в среду выращивания проростков в условиях стресса оказывало положительный эффект на состояние пигментов Хл  $a_{680}$  и  $b_{645}$ . Как экстракт шалфея, так и солодки способствовали восстановлению поглощающей способности обоих пигментов, подавляемых стрессом. Действие экстракта



**Рисунок 1.** Действие ( $10^{-3}$ М) ионов  $\text{Cu}^{2+}$  (А), соли  $\text{NaCl}$  (Б), двойного стресса  $\text{CuSO}_4+\text{NaCl}$  (С) на формы Хл  $a_{680}$  нм и Хл  $b_{645}$  нм при pH 6,8 среды в течении 24 часа на 7-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и защита их экстрактами из листьев шалфея (*Folia Salvia officinalis*) и корней солодки (*Radix glycyrrhizae*). Спектры поглощения были сняты при комнатной температуре

**Таблица 1.** Зависимость изменения величины отношения Хл  $a_{680}$ /Хл  $b_{645}$  от действия ионов ( $10^{-3}$ М)  $\text{Cu}^{2+}$ , NaCl, NaCl+ $\text{CuSO}_4$  в течении 24 часа и защита экстрактами шалфея и солодки

Условия	Хл $a_{680}$ /Хл $b_{645}$			
	Контроль	Стресс	Шалфей	Солодка
$\text{CuSO}_4$	2,6	1,1	1,7	1,1
NaCl	1,8	1,3	1,8	1,9
NaCl+ $\text{CuSO}_4$	1,8	1,4	1,9	1,8

шалфея в условиях  $\text{Cu}^{2+}$  повышало содержание Хл  $a_{680}$  на 25%, при действии NaCl на 73%, при двойном стрессе ( $\text{CuSO}_4$ +NaCl) на 87%. Действие экстракта корни солодки в условии NaCl на 83%, при двойном стрессе ( $\text{CuSO}_4$ +NaCl) на 89% относительно стресса (рис. 1).

Как видно из таблицы 1 стрессовые факторы приводят к понижению величины отношения Хл  $a_{680}$ /Хл  $b_{645}$ . Это указывает на большую устойчивость Хл  $b_{645}$  к данным стрессам. При добавлении на 24 часа экстрактов в среду выращивания проростков содержащую  $\text{Cu}^{2+}$  наблюдается тенденция к увеличению отношения Хл  $a_{680}$ /Хл  $b_{645}$ , что предполагает больший защитный эффект шалфея по отношению к Хл  $a_{680}$ . Эффект экстракта солодки выражается в защите устойчивости Хл  $a_{680}$  при действии NaCl и  $\text{CuSO}_4$ +NaCl (табл. 1).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Токсическое действие тяжелых металлов и засоление приводят к образованию РФК вызывающих окислительный стресс в растительном организме [19]. Окислительный стресс вызывает ответные стрессовые реакции, подавляющие физиологические и фотосинтетические функции [20]. Наблюдается нарушение равновесие между фотосистемами и подавляющее нарушение окислительно-восстановительных реакции. Фотосинтезирующие пигменты, Хл  $a_{680}$  и Хл  $b_{645}$  в силу деструктивных изменений снижают поглощающую способность. Для того чтобы обеспечить нормальный метаболизм в клетке растений мобилизуются как энзиматическая так низкомолекулярная система защиты способная тушить свободные радикалы [21]. Повреждающему действию РФК противостоят испытываемые экстракты лекарственных растений корней солодки и листья шалфея. В настоящее время эти растения рассматриваются как потенциальный источник антиоксидантов натурального происхождения. Вероятно, содержащие в них фотохимические соединения: такие как у растений шалфея (*Folia Salvia officinalis*), содержащего сапонины (урсоловую, олеаноловую кислоты, каротин, витамин С) [22] и солодки (*Radix glycyrrhizae*), имеющий в составе сапонин-глицирризин [23]. В условии комплексного стресса данные экстракты были способны подавлять окислительный стресс корректируя содержание и соотношение фотосинтетических пигментов.

### Список литературы / References:

1. Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу. *Биол. мембраны*, 2007, т. 24, № 3, с. 195-217. [Kreslavsky V.D., Karpentier R., Klimov V.V., Murata N., Allakhverdiev S.I. Molecular mechanisms of resistance of the photosynthetic apparatus to stress. *Biol. membranes*, 2007, vol. 24, no. 3, pp. 195-217. (In Russ.)]
2. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 2002, vol. 7, no. 9, pp. 405-410. DOI: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9
3. Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. *Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений*. Под общ. ред. проф. А.С. Лукаткина, Саранск: Изд-во Мордов., 2002, 169 с. [Bashmakov D.I., Lukatkin A.S. *Ecological and physiological aspects of the accumulation and distribution of heavy metals in higher plants*. Ed. ed. prof. A.S. Lukatkina, Saransk: Publishing house of Mordov., 2002, 169 p. (In Russ.)]
4. Boominathan R., Doran P.M. Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator. *Alyssum bertolonii*. *New phytologist*, 2002, vol. 156, no. 2, pp. 205-215. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00506.x
5. Gajewska E., Skłodowska M. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *Biometals*, 2007, vol. 20, no. 1, pp. 27-36. doi: 10.1007/s10534-006-9011-5
6. Малева М.Г., Некрасова Г.Ф., Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Ушакова О.С. Влияние тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат и антиоксидантный статус элодеи. *Физиология растений*, 2012, т. 59, № 2, с. 216-224. [Maleva M.G., Nekrasova G.F., Borisova G.G., Chukina N.V., Ushakova O.S. The influence of heavy metals on the photosynthetic apparatus and the antioxidant status of elodea. *Plant physiology*, 2012, vol. 59, no. 2, pp. 216-224 (In Russ.)]
7. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты. *Рос. Хим. Ж.*, 2007, т. LI, № 1, с. 3-12. [Burlakova E.B. Bioantioxidants. *Rus. Chem. J.*, 2007, vol. LI, no. 1, pp. 3-12 (In Russ.)]

8. Prasad M.N.V., Strzalka K. (Ed.). Heavy Metal Influence on the light phase of photosynthesis. *In book Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*, 2002, pp. 229-255. doi: 10.1007/978-94-017-2660-3\_9
9. Shainberg O., Rubin B., Rabinowitch H.D., Tel-Or E. Loading beans with sublethal levels of copper enhances conditioning to oxidative stress. *Journal of Plant Physiology*, 2001, vol. 158, no. 11, pp. 1415-1421. doi: 10.1078/0176-1617-00626
10. Fernandes J.C., Henriques F.S. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *Bot. Rev.*, 1991, vol. 57, no. 3, pp. 246-273. doi: 10.1007/bf02858564
11. Sudhir P., Murthy S.D.S. Effect of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 2004, vol. 42, no. 4, pp. 481-486. doi:10.1007/S11099-005-0001-6
12. King G.J., Turner V.A., Hussey Jr Ch.E., Wurtele E.S., Lee M. Isolation and characterization of tomato cDNA clone which codes for a salt-induced protein. *Plant Mol.Biol.*, 1988, vol. 10, pp. 401-412. doi: 10.1007/BF00014946
13. Terjung F., Berg D., Mailer K., Otteken D. Effect of D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> protein degradation in water stressed leaves of *Pisum sativum*. Photosynthesis: From light to biosphere. *Proc. of the X Congr. of photosynthesis. Montpellier, France*, 1995, vol. 4, pp. 709-712.
14. Sato F., Konda V., Shiga M. Characterization of OEC 23 polypeptide of NaCl – adapted photoautotrophic cultured cells of tobacco. Photosynthesis: From light to biosphere. *Proc. of the X Congr. of photosynthesis. Montpellier, France*, 1995, vol. 4, pp. 601-603.
15. Smillie R., Nott R. Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence *in vivo*. *Plant Physiol.*, 1982, vol. 70, no. 4, pp. 1049-54. doi: 10.1104/pp.70.4.1049
16. Sharma N., Gupta N.K., Gupta S., Hasegawa H. Effect of NaCl salinity on photosynthetic rate, transpiration rate and oxidative stress tolerance in contrasting wheat genotypes. *Photosynthetica*, 2005, vol. 43, no. 4, pp. 609-613. doi: 10.1007/s11099-005-0095-x
17. Pajero I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Saavedra G., Murcia M.A., Jimenez A.M., Codina C. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, 2003, vol. 73, no. 13, pp. 1667-1681. doi: 10.1016/s0024-3205(03)00488-0
18. Lin C.C., Huang P.C. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Acatopanax senticosus*. *Phytother Res.*, 2000, vol. 14, no. 7, pp. 489-494. doi: 10.1002/1099-1573(200011)14:7<489::aid-ptr656>3.0.co;2-g
19. Mysliwa-Kurczel B., Strzalka K. Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments. *In Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, eds Prasad M.N.V. et Strzalka K., 2002, pp. 201-226. doi: 10.1007/978-94-017-2660-3\_8
20. Ганиева Р.А., Курбанова И.М., Дадашева С.Б. Флуоресценция хлорофилла и полипептидный состав тилакоидов при воздействии NaCl и полиэтиленгликоля на проростки пшеницы. *Физиология и биохимия культурных растений*, 2000, т. 32, № 4, с. 273-278. [Ganiyeva R.A., Kurbanova I.M., Dadasheva S.B. Fluorescence of chlorophyll and polypeptide composition of tylakoids under action of NaCl and polyethyleneglycol on wheat seedlings. *Physiology and biochemistry of cultured plants*, 2000, vol. 32, no. 4, pp. 273-278. (In Russ.)]
21. Dadashova S.B., Bayramova S.A., Kurbanova I.M. Protection of photosynthetic pigments from toxic action of copper by plant extracts. *Advances in Biology & Earth Sciences*, 2018, vol. 3, no. 2, pp. 107-113
22. Керимов Ю.В. Полезные свойства растений из флоры Азербайджана. *Известие НАНА*, 1982, с. 16-21. [Kerimov, Yu.V. The useful properties of some plants from flora of Azerbaijan. *Proceeding of the National Academy of Sciences Azerbaijan*, 1982, pp. 16-21. (In Russ.)]
23. Дамиров И.А., Прилипко Л.И., Шукюров Д.З., Керимов Ю.Б. *Лекарственные растения Азербайджана*. Из-во «Маариф», Баку, 1982. [Damirov I.A., Prilipko L.I., Shukurov D.Z., Kerimov Yu.B. *Medicinal plants of Azerbaijan. "Maarif", Baku*, 1982. (In Russ)]

## PLANT EXTRACTS IN PROTECTION OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN OXIDATIVE STRESS

Dadashova S.B., Kurbanova I.M.

Institute of Botany, Azerbaijan National Academy of Sciences

Baku, Azerbaijan; e-mail: sevil\_fotosintez@mail.ru

**Abstract.** The comparative states of photosynthetic pigments in the leaves of seven-day wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) exposed for 24 hours to ( $10^{-3}$  M) toxic ions of CuSO<sub>4</sub>, NaCl, CuSO<sub>4</sub>+NaCl salts and extracts of licorice roots, sage leaves having protective properties under these stresses were carried out. It was shown that under all stresses, the formed reactive oxygen species (ROS), which causes stress, reduced the content of chlorophylls (Chl *b*<sub>645</sub> nm and Chl *a*<sub>680</sub> nm) after 24 hours. The addition of both sage and licorice extracts to the stress seedlings under study restored the absorption capacity of both pigments. It can be assumed that the studied extracts have antioxidant (AO) properties and are able to extinguish the ROS formed by the action of heavy metals (HM).

**Key words:** chlorophyll *a* and *b*, heavy metals, oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants.