

УДК 577.2

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ В ЛИСТЬЯХ ЯБЛОНИ

Мишко А.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия" (Краснодар)

Реферат. Выявлено негативное влияние гипертермии в течение летнего периода на различные сорта яблони на основе показателей интенсивности перекисного окисления липидов и увеличения активности одного из ферментов антиоксидантной системы защиты растений – пероксидазы. Было установлено, что в первой половине летнего периода для исследованных сортов характерно повышение активности пероксидазы и снижение уровня перекисного окисления липидов в контрольных условиях. При искусственном повышении температуры воздуха был отмечен триплоидный сорт Родничок как наиболее устойчивый к воздействию данного фактора.

Ключевые слова: гипертермия, яблоня, малоновыйдиальдегид, пероксидаза.

Summary. The high temperature is one of several major abiotic stresses. During the summer period, we enhanced this stress by raising the temperature in the laboratory condition to 50°C (during 1 hour) on one-year-old shoots of four apple cultivars. The intensity of lipid peroxidation in leaves cells was determined by malondialdehyde concentration. The level of enzyme activity of antioxidant plant protection system was studied by peroxidase activity. The triploid Rodnichok was noted as the most resistant apple cultivar to the influence of high temperature.

Key words: high temperature, *Malus domestica* cultivars, malondialdehyde, peroxidase.

Введение. Под гипертермией понимают повышение температуры воздуха выше климатической нормы в течение вегетационного периода. Воздействие высоких температур оказывает негативное влияние на растения, подвергая их в состояние теплового шока, что приводит к увеличению образования активных форм кислорода (АФК) и нарушению баланса между образованием АФК и их нейтрализацией. Одновременно с повышением уровня АФК запускается ряд защитных систем, препятствующих накоплению свободных радикалов, снижению интенсивности фотосинтеза, замедлению роста и развития растения. К АФК относится пероксид водорода (H_2O_2), избыточное содержание которого вызывает свободнорадикальное окисление молекул в растительных клетках. Детоксикация пероксида водорода осуществляется группой антиоксидантных ферментов, к которым относятся пероксидазы. Повышение активности пероксидазы у разных сортов яблони было отмечено в результате воздействия низких и высоких температур [1, 2], а также гербицидов [3].

Показателем перекисного окисления липидов является повышенное содержание малоновогодиальдегида (МДА), который образуется в клетках при деградации полиненасыщенных жирных кислот активными формами кислорода. Увеличение МДА у разных сортов яблони было отмечено при воздействии таких стрессовых факторов, как экстремальные температуры [1, 2], засоление [4] и засуха [5].

В настоящей работе были рассмотрены четыре сорта яблони разного срока созревания, которые были подвержены температурному стрессу. По показателям уровня активности пероксидазы и содержания МДА были выделены наиболее устойчивые сорта,

антиоксидантная система защиты которых более эффективно отреагировала на гипертермию в экспериментальных условиях.

Объекты и методы исследований. В качестве объектов исследования были выбраны сорта яблони раннелетнего срока созревания – сорт Пирос, летнего и позднелетнего срока созревания – Фортуна и Родничок, а также зимнего срока созревания – сорт Айдаред [6, 7]. Условия гипертермии создавали путем помещения однолетних побегов яблони в термостат на один час при температуре 50°C, не допуская высушивания побегов. Эксперимент повторяли трижды в течение летнего периода (июнь, июль, август). Для анализируемых параметров отбирали листья в средней части побега.

Листья измельчали в стерильной охлажденной фарфоровой ступке холодным пестиком с помощью жидкого азота. Для определения активности пероксидазы брали 0.1 г растительного материала и гомогенизировали в экстрагирующем буфере. Полученный белковый экстракт использовали для определения количественного содержания белка методом Бредфорда [8] и активности пероксидазы колориметрическим методом по Бояркину [9].

Содержание малонового диальдегида, конечного продукта перекисного окисления липидов, оценивали спектрофотометрическим методом с образованием окрашенных комплексов тиобарбитуровой кислоты при высокой температуре в кислой среде [10].

Статистическую обработку данных проводили с помощью статистических пакетов программ Excel (MS Office 2013) и STATGRAPHICS Centurion. Были подсчитаны средние и их стандартные отклонения. Для сравнения данных использовали непараметрический критерий Краскелла-Уоллиса и тест ANOVA. Полученные результаты приведены в двух-трехкратной аналитической повторности.

Обсуждение результатов. В течение летнего периода было установлено, что под воздействием гипертермии четыре сорта яблони разной степени устойчивости к абиотическим факторам, согласно полевым исследованиям [7], отличаются по уровню состояния антиоксидантной системы защиты. Установлено, что максимальные значения содержания МДА, конечного продукта перекисного окисления липидов, были выявлены в июле месяце, которые для сорта Фортуна и Айдаред составили 16.2 и 13.9 мкмоль г⁻¹ сырой массы соответственно в контрольных условиях и 18.8 и 21.7 мкмоль г⁻¹ сырой массы при стрессе (рис. 1). Минимальные значения данного показателя были отмечены в июне для всех исследуемых сортов в контрольных условиях. Для сорта Родничок и Фортуна характерно относительно небольшое повышение уровня МДА при гипертермии в течение всего летнего периода по сравнению с контролем (не более 16%), тогда как для сорта Пирос и Айдаред содержание МДА в условиях стресса максимально возрастает почти в 2 раза относительно контроля в начале летнего периода.

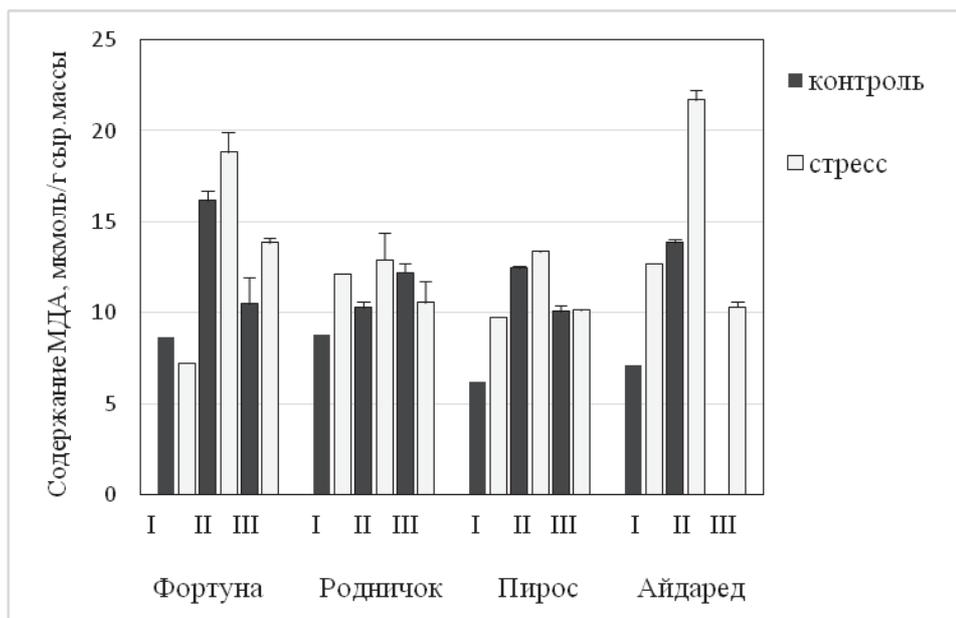


Рисунок 1. Содержание МДА в листьях разных сортов яблони в течение летнего периода. I – июнь, II – июль, III – август. Контроль – 24–25°C, стресс – 50°C в течение 1 часа.

Анализ активности одного из основных ферментов, нейтрализующих избыточное содержание пероксида водорода в клетках растений, показал, что наибольшие значения активности пероксидазы в листьях яблони выявлены в начале летнего периода – от 3.4 до 8 у.е. мг⁻¹ белка (рис. 2).

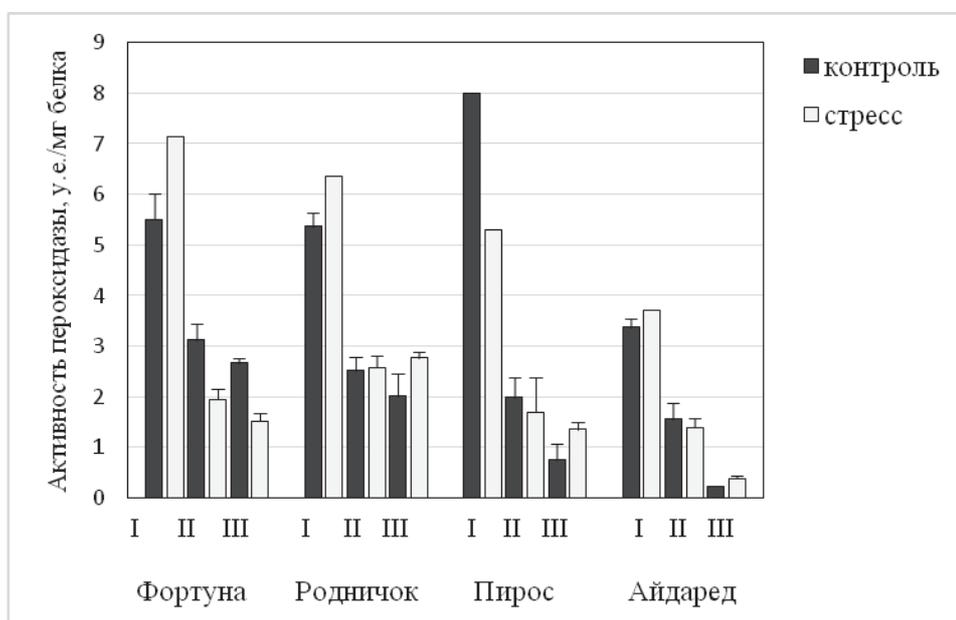


Рисунок 2. Активность пероксидазы в листьях разных сортов яблони в течение летнего периода. I – июнь, II – июль, III – август. Контроль – 24–25°C, стресс – 50°C в течение 1 часа.

Максимальное повышение активности исследуемого фермента в условиях стресса относительно контроля более чем в 1.2–1.5 раза было отмечено у сортов Фортуна и Родничок в июне, а также в августе у сортов Родничок и Айдаред. Напротив, резкое снижение активности пероксидазы в 1.5–1.8 раза в июне было характерно для сорта Пирос, а в июле-августе для сорта Фортуна.

Выводы. Полученные результаты позволяют заключить, что в начале летнего периода при высоком уровне активности пероксидазы содержание МДА в листьях яблони ниже по сравнению с соответствующими показателями в середине и конце летнего периода, что определяет повышенную степень антиоксидантной системы защиты в листьях яблони исследуемых сортов в момент исследования.

В естественных природных условиях сорта Фортуна и Родничок характеризуются высокой степенью устойчивости к повышению летних температур воздуха [7], но при экспериментальной гипертермии их показатели оказались различными. У сорта Фортуна было установлено снижение активности антиоксидантного фермента в июле-августе, что способствовало повышению уровня окисления липидов в этот период. Параметры сорта Родничок были более стабильными, что, возможно, могло быть обусловлено триплоидностью данного сорта (остальные анализируемые сорта являются диплоидами). В современных работах авторы отмечают, что повышение устойчивости сортов яблони при воздействии стрессовых факторов связано с возрастанием их плоидности [4, 11].

Айдаред также характеризуют как устойчивый сорт [6], но в условиях эксперимента высокое содержание МДА соответствует быстрому развитию перекисного окисления молекул в клетках растения. Для сорта Пирос по результатам настоящих исследований был отмечен низкий уровень активности фермента, неспособный нивелировать отрицательное воздействие гипертермии.

Литература

1. Голышкина Л. В., Голышкина Л. В., Красова Н. Г., Галашева А. М., Голышкин Л. В. Изменение активности антиоксидантных ферментных систем и перекисного окисления липидов в тканях развивающейся завязи яблони под действием отрицательной температуры весеннего периода [Электронный ресурс] // Современное садоводство. – 2015. – №3. – С. 26–36. Режим доступа: <http://journal.vniispk.ru/>
2. Ma Y.-H., Ma F.-W., Zhang J.-K., Li M.-J., Wang Y.-H., Liang D. Effects of high temperature on activities and gene expression of enzymes involved in ascorbate-glutathione cycle in apple leaves // *Plant Science*. – 2008. – №175. – P. 761–766.
3. Wei Z., Gao T., Liang B., Zhao Q., Ma F., Li C. Effects of exogenous melatonin on methyl viologen-mediated oxidative stress in apple leaf // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – №19 (316). – P. 1–14.
4. Xue H., Zhang F., Zhang Z.-H., Fu J.-F., Wang F., Zhang B., Ma Y. Differences in salt tolerance between diploid and autotetraploid apple seedlings exposed to salt stress // *Scientia Horticulturae*. – 2015. – №190. – P. 24–30.
5. Liao X., Guo X., Wang Q., Wang Y., Zhao D., Yao L., Wang S., Liu G., Li T. Overexpression of MsDREB6.2 results in cytokinin-deficient developmental phenotypes and enhances drought tolerance in transgenic apple plants // *The Plant Journal*. – 2017. – №89. – P. 510–526.
6. Атлас лучших сортов плодовых и ягодных культур Краснодарского края. Т. 1. Яблоня. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии, 2008. – 104 с.
7. Ульяновска Е.В., Супрун И.И., Токмаков С.В., Ушакова Я.В. Комплексный подход к отбору ценных генотипов яблони, устойчивых к стрессовым факторам среды [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2014. – №25 (01). – С. 11–25. Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/14/01/02.pdf>
8. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem*. – 1976. – №72. – P. 248–254.
9. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
10. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / Под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова – М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. – 487 с.
11. Zhang F., Xue H., Lu X., Zhang B., Wang F., Ma Y., Zhang Z. Autotetraploidization enhances drought stress tolerance in two apple cultivars // *Trees*. – 2015. – №29. – P. 1773–1780.