

Г. Н. Чупахина

**АБИОТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ,
ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ПУЛ АНТИОКСИДАНТОВ РАСТЕНИЙ**

Представлен обзор исследований, выполненных в Российском государственном университете имени Иммануила Канта, по влиянию абиотических факторов на формирование пула антиоксидантов растений.

The article reviews the research on the influence of abiotic factors on plant antioxidant pool formation conducted at IKSUR.

Ключевые слова: абиотические факторы, стресс, антиоксиданты.

Keywords: Abiotic factors, stress, antioxidants.

В процессе нормального функционирования, и особенно в условиях стресса, в растениях увеличивается содержание активных форм кислорода (АФК): супероксидного и гидроксильного радикалов, пероксида водорода и синглетного кислорода, которые могут приводить к преждевременному старению или даже гибели клеток [1].

Растения обладают достаточной устойчивостью к окислительным повреждениям, что обусловлено наличием эффективных антиоксидантных систем. Они представлены ферментативными антиоксидантами, такими как супероксиддисмутаза, каталаза, дегидроаскорбатредуктаза, глутатионтрансфераза, аскорбатпероксидаза, фосфолипидгидропероксидаза и другие.

Набор неферментативных антиоксидантов достаточно велик и включает аскорбиновую кислоту, глутатион, каротиноиды, антоцианы, токоферолы, убихиноны, флавоноиды, цистеин, метионин и многие другие соединения [2].

Ответ антиоксидантной системы на один и тот же стрессор зависит от вида растений, степени и продолжительности стрессового воздействия, от характера стрессового фактора, от состояния антиоксидантной системы, исходного уровня антиоксидантной активности, возраста растений и условий их выращивания [3]. Поэтому оценка успешности антиоксидантной защиты предполагает всестороннее исследование данного многофакторного процесса.

В Российском государственном университете имени Иммануила Канта длительное время ведутся исследования системы аскорбиновой кислоты растений, включающей ее восстановленную форму (АК), дегидроформу (ДАК) и продукт необратимого превращения последней — дикетогулоновую кислоту (ДКГК) [4]. Аскорбиновая кислота выполняет важные функции в жизни растений и человека, при этом участие витамина С в метаболизме гетеротрофных организмов более конкретизировано, что же касается автотрофов, продуцирующих АК, то для них еще нужно уточнить и функцию данного соединения, и пути его новообразования.

Не вызывает сомнения тот факт, что одним из важнейших условий, определяющих биосинтез АК у растений, является свет. В сухих семенах АК отсутствует, при их прорастании даже в темноте в проростках



синтезируется АК, но, вероятно, за счет предшественников, запасенных семенем. В зеленых же растениях АК накапливается преимущественно на свету, поэтому оправданно связывать ее биосинтез с фотосинтезом. Однако выполненное нами исследование действия света различного спектрального состава на биосинтез АК показало, что спектры действия фотосинтеза и биосинтеза АК в отдельных областях не совпадают. В частности, показана высокая активность желто-зеленого света в процессе образования АК. Отсутствует положительная корреляция в содержании фотосинтетических пигментов и способности растений накапливать АК. Кроме этого, светозависимый синтез АК был обнаружен у экспериментально полученных альбиносных проростков ячменя. Представленные данные позволяют говорить об отсутствии прямой связи между фотосинтезом и биосинтезом АК, хотя полностью отрицать ее наличие нельзя, так как углеводный субстрат для новообразования АК поставляется фотосинтезом.

Экспериментально показано наличие связи между светозависимым биосинтезом АК и дыхательным процессом в целом, а также с отдельными его этапами: гликолизом и ЦТК, особенно с последним [5]. При активации ЦТК интермедиатами цикла (янтарной, α -кетоглутаровой кислотой) и при его ингибировании соответственно менялось и накопление АК [6]. Исследование субклеточной локализации АК в связи с освещением выявило активное накопление АК во фракции, включающей митохондрии, что также указывает на связь биосинтеза АК с органами дыхания, хотя ингибирование хлоропластных, митохондриальных и цитоплазматических рибосом показало, что биосинтез АК в большей степени зависит от функционирования цитоплазматических 80S-рибосом, чем от митохондриальных и хлоропластных [7].

Наблюдаемое светозависимое накопление АК в растениях, вероятно, нельзя связать с каким-либо одним процессом: фотосинтезом или дыханием. Уже сейчас ясно, что существует несколько процессов, которые будут определять накопление АК на свету, и эти процессы могут быть связаны с фотосинтезом или с дыханием, для которого в последние годы показано наличие реакций, активируемых светом.

Пул АК в растениях определяется одновременно идущими процессами биосинтеза и использованием АК во многих процессах, в том числе и связанных с обоими энергодающими процессами — фотосинтезом и дыханием. Так, показано, что уровень АК на свету, с одной стороны, зависит от функционального состояния пластоцианина и P_{700} . С другой стороны, он зависит от активности дыхательных ферментов — ферментов, окисляющих АК: аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, цитохромоксидазы и пероксидазы. Три первых фермента у зеленых проростков ингибируются светом, пероксидаза — активируется. У дефицитных по зеленым пигментам и альбиносных проростков свет активирует все вышеуказанные ферменты, поэтому одним из факторов, определяющих светозависимое накопление АК у нормально пигмен-



тированных растений, является ингибирование светом большинства ферментов, ее окисляющих [4].

Говоря о действии света на биосинтез АК, нужно иметь в виду не только опосредованное его влияние через фотосинтез, дающий субстрат для образования АК, но и непосредственное его действие в процессе образования молекулы АК из глюкозы или галактозы. Одной из таких реакций может быть фотовосстановление предшественника АК или активирование светом 1-гулоно- γ -лактондегидрогеназы, катализирующей последнюю ступень биосинтеза АК в митохондриях и являющейся флавинодержащим ферментом [8].

Фонд АК в растениях на свету может пополняться не только за счет новообразования АК, но и путем фотовосстановления ДАК в АК в хлоропластах. Остается неясным, возможно ли восстановление ДАК за счет восстановителя, образующегося в процессе окислительного фосфорилирования. Следовательно, уровень АК в растениях будет зависеть от направленности процессов в системе АК \leftrightarrow ДАК. В связи с этим, характеризуя содержание АК в растениях, и особенно метаболизм данного соединения, необходимо одновременно анализировать содержание не только АК и ДАК, но и ДКГК, образующейся при необратимой трансформации ДАК в результате разрыва ее лактонового кольца. ДКГК растений практически не исследована, хотя это соединение начинает привлекать к себе внимание благодаря выявленному противоопухолевому его действию.

Таким образом, содержание АК в растениях определяется многими одновременно идущими процессами (рисунок), и регуляция ее накопления на свету требует согласованной их работы. Это имеет место не только при нормальном функционировании растений, но и в стрессовых условиях, которые обычно сопровождаются усилением биосинтеза и использования антиоксиданта — аскорбиновой кислоты.

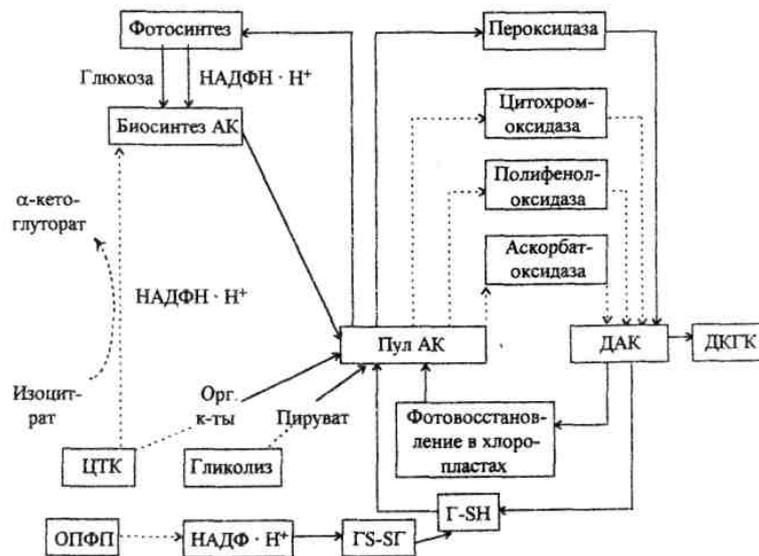


Рис. Процессы, формирующие пул АК в зеленых проростках ячменя, активируемые (→) и ингибируемые (.....) светом:

Г-SH – глутатион восстановленный;

Г-S-SГ – глутатион окисленный;

орг. к-ты – органические кислоты: янтарная и α-кетоглутаровая

Изучение влияния факторов разнообразной природы на систему АК проростков ячменя показало, что действие химических веществ (тетрабората натрия – в концентрации 10^{-5} моль/л, янтарной кислоты – 10^{-4} и 10^{-5} моль/л), биотехнологических продуктов (сульфитного щелока – 0,1; 0,2; 3–7%-ного растворов; лигносульфонатов – 0,8 и 1,25%-ного), электрического поля напряженностью $5 \cdot 10^5$ В/м (3 и 22 часа) вызывает изменения в системе АК проростков ячменя, которые сопровождаются увеличением содержания восстановленной формы АК [9]. Известны факты, когда уровень АК повышался при действии неблагоприятных факторов, что может быть опосредовано накоплением активных форм кислорода. Это может быть связано с защитной функцией АК, которая, выступая в роли восстановителя, повышает устойчивость растений. Следовательно, увеличение содержания АК при действии факторов самой разнообразной природы (химических, биотехнологических, физических) можно рассматривать как неспецифическую реакцию, включенную в механизм защиты растений в неблагоприятных условиях. Этот процесс, скорее всего, имеет место на этапе адаптации растений к неблагоприятному фактору. Поскольку в этих условиях повышение уровня восстановленной формы АК в растениях было сопряжено с активацией ростовых процессов, то, вероятно, это состояние еще нельзя считать стрессом, так как одной из реакций растений на стресс является заторможенный рост [10]. Возможно, это фаза преадаптации, во время которой растения приобретают неспецифическую устойчивость [11].



Исследование роли кислот системы аскорбиновой кислоты в формировании устойчивости растений, произрастающих в уникальных условиях Куршской косы, показало, что у доминантов флоры дюн Куршской косы система АК реагирует на условия произрастания и изменяется в зависимости от фазы онтогенеза растений [12].

В начале вегетационного периода в листьях исследуемых растений отмечен максимальный уровень аскорбиновой кислоты: у колосняка песчаного (*Leymus arenarius* (L.) Hochst) и песколюба песчаного (*Ammophila arenaria* (L.) Link) – в фазу весеннего возобновления вегетации, у осоки песчаной (*Carex arenaria* L.) – в фазу выметывания и у чины приморской (*Lathyrus maritimus* Bigel) – в фазу цветения. Изменения содержания аскорбиновой кислоты в онтогенезе обусловлены различной скоростью биосинтеза АК и ее использования. Уровень аскорбиновой кислоты в онтогенезе колосняка песчаного, песколюба песчаного, осоки песчаной и чины приморской был выше у растений наветренной стороны авандюны, где условия произрастания менее благоприятны, чем на подветренной стороне. Количество аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и дикетогулоновой кислот повышалось в ответ на температуры почвогрунтов выше +33 °С и ниже +11 °С; при 24-часовом ветровом воздействии у чины приморской, вики посевной (*Vicia sativa* L.), ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) и 48-часовом у колосняка песчаного; при 1–15-минутном опылении растений аэрозолем хлорида натрия, а также в условиях загрязнения окружающей среды.

Наряду с АК конкретизировалась роль и других антиоксидантов в процессах адаптации растений. Так, проведенный анализ некоторых эколого-биохимических показателей трех видов интродуцентов – вегетирующих растений рода *Juglans* L., отличающихся различной степенью адаптации к новым условиям, показал, что повышенный уровень АК и ДКГК был у менее адаптированного вида *J. rupestris*. Два других вида (*J. cordiformis*, *J. regia*), успешно акклиматизированных в Калининградской области, характеризовались высоким содержанием антоциановых пигментов и рутина. Это позволяет сделать вывод о том, что наиболее показательными соединениями, которые можно использовать при оценке адаптационных возможностей растений рода *Juglans* L., могут быть антоцианы и витамин Р, так как их уровень напрямую коррелировал с успешностью адаптации изученных видов [13].

Выполнено исследование влияния загрязнения воздушного бассейна города Калининграда на древесные растения: рябину обыкновенную (*Sorbus aucuparia* L.), липу сердцевидную (*Tilia cordata* Mill.), клен остролистный (*Acer platanoides* L.), ель колочую (*Picea pungens* Engelm.) [14]. Установлено, что загрязнение воздушного бассейна стимулировало использование восстановленной формы аскорбиновой кислоты, что сопровождалось увеличением уровня ее окисленной формы, и дикетогулоновой кислоты. Уровень каротиноидов и антоциановых пигментов у всех исследованных древесных пород города также повышался с нарастанием загрязнения.

Довольно подробно исследованы экологические аспекты накопления в растениях антоциановых пигментов. Было показано, что химиче-



ские вещества (тетраборат натрия – 10^{-4} моль/л и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л), дефицит азота, фосфора и калия, засоление, низкие положительные температуры, свет высокой интенсивности ($25 \text{ Дж/м}^2 \cdot \text{с}$), поллютанты, а также периоды интенсивного роста и старения сопровождаются образованием антоциановых пигментов [15]. Известно, что уровень активных кислородных радикалов (супероксидного радикала $\text{O}_2^{\bullet-}$, гидроксильного радикала OH^{\bullet}), перекиси водорода (H_2O_2) и синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) также повышается в этих условиях. Имеются данные о том, что флавоноиды могут нейтрализовать АФК: H_2O_2 ; $\text{O}_2^{\bullet-}$; $^1\text{O}_2$, образуемые вследствие фотосинтетических процессов в хлоропластах [16].

Нейтрализация H_2O_2 ; $\text{O}_2^{\bullet-}$; $^1\text{O}_2$ антоцианами позволяет избежать сильного окислительного стресса, возникающего в результате действия неблагоприятных факторов, и обуславливает функционирование антоцианов как эндогенных антиоксидантов, уменьшающих токсичность АФК, и их конкурентное наравне с супероксиддисмутазой, дополняя или компенсируя недостаток таких эндогенных антиоксидантов, как глутатион, флавонолы или АК, выступая в качестве донора электронов для пероксидазной реакции. К тому же отсутствие аскорбатпероксидазы в вакуолях клеток не позволяет участвовать в детоксикации АФК аскорбиновой кислоте [16].

Возможно, усиление накопления антоцианов – адаптивная стадия развития растительного организма, включенная в механизм защиты растений к неблагоприятным условиям среды, способствующая приобретению неспецифической устойчивости под воздействием стресс-фактора [10]. Почему антоцианы синтезируются взамен бесцветных и более эффективных флавоноидных предшественников, остается не вполне ясным. Возможно, антоциановые пигменты являются более эффективными фотопротективными водорастворимыми соединениями, которые выполняют свои функции, находясь в вакуолярном резерве [17].

Так или иначе, антоцианы могут действовать совместно с другими более эффективными протекторными молекулами в растительной клетке, возмещая их дефицит в течение действия целого ряда стрессовых факторов: химический стресс, дефицит элементов питания, засоление, низкие положительные температуры, свет высокой интенсивности, поллютанты, а также в периоды интенсивного роста и старения повышая устойчивость растений к их действию.

Причины, вызывающие окислительный стресс в растениях, исследуются довольно активно [18–23]. Нами изучено влияние дефицита микроэлемента цинка и света повышенной интенсивности ($I = 520–680 \text{ мкмоль/м}^2 \cdot \text{с}$) на накопление малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов. Показано, что данные факторы способствуют интенсификации накопления АФК в клетках растений китайской капусты и ячменя, что выражалось в увеличении содержания в них малонового диальдегида [24; 25].



Наряду с неферментативными антиоксидантами, большая роль в защите растений при окислительном стрессе принадлежит антиоксидантной ферментативной системе. Проведенное исследование [26] выявило специфический ответ ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, аскорбатпероксидазы и дегидроаскорбатпероксидазы) на действие различных экологических факторов: дефицит цинка и света повышенной интенсивности.

Таким образом, исследование влияния абиотических факторов на формирование пула некоторых антиоксидантов растений — АК, каротиноидов, антоцианов, рутина, антиоксидантных ферментов — проводимое силами сотрудников факультета биоэкологии РГУ им. И. Канта, это фрагмент масштабной работы по изучению природных антиоксидантов, которые не только защищают живые организмы от действия АФК, но и определяют качество растительной пищи, кормов, а в конечном итоге качество жизни человека и ее продолжительность. Решение проблем современного общества — экологии, здоровья, демографии — невозможно без изменения отношения к пище. Она должна быть сбалансированной по основным элементам питания и качественной по наличию физиологически активных соединений. При этом рациональное питание человека должно учитывать целый комплекс факторов — экологических, физических, психологическое состояние человека — все, что меняет потребность человека в антиоксидантах. Экологические условия, как показано в обзоре, определяют скорость новообразования и использования антиоксидантов, их набор, поэтому продолжение работ в этой области будет направлено не только на определение антиоксидантного статуса биоресурсов Калининградской области, но и на изучение условий, определяющих биосинтез антиоксидантов и их стабильность, а также на исследование возможности повышения продуктивности продуцентов природных антиоксидантов. Перспектива исследований в данной области в настоящее время значительно расширяется в связи с созданием на факультете биоэкологии РГУ им. И. Канта лаборатории природных антиоксидантов в рамках национального проекта «Образование».

Список литературы

1. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб., 2002.
2. Тодоров И. Н., Тодоров Г. Н. Стресс, старение и их биохимическая коррекция. М., 2003.
3. Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М., 2007.
4. Чулахина Г. Н. Система аскорбиновой кислоты растений. Калининград, 1997.
5. Зубкова С. К. и др. Действие света на темновое дыхание альбиносных и зеленых участков листа ячменя // Физиология растений. 1988. Т. 35. Вып. 2. С. 254 — 259.
6. Окуницов М. М. и др. Действие некоторых органических кислот на синтез аскорбиновой кислоты в проростках ячменя // Доклады высшей школы. Биологические науки. 1974. №5. С. 81 — 86.



7. Чупахина Г.Н., Кузнецова Л.Г., Ковалева Н.А. Светозависимое накопление аскорбиновой кислоты и ее производных в листьях ячменя в присутствии ингибиторов белкового синтеза // Физиология растений. 1994. Т. 41. №1. С. 24–28.
8. Ostergaard I., Persiau G., Davey M.W., Bauw G., Montagu M. V. Coding for l-Galaktono- γ -Lactone Dehydrogenase, an Enzyme involved in the Biosynthesis of Ascorbic Acid in Plants // JBC Online. 1997. V. 272. №48. P. 30009–30016.
9. Романчук А.Ю. Влияние некоторых химических веществ, биотехнологических продуктов и электрического поля на систему аскорбиновой кислоты проростков ячменя: автореф. дис. канд. биол. наук. Калининград, 2002.
10. Chapin F.S. Integrated responses of plants to stress. A centralized system of physiological responses // Bio Science. 1991. V. 41. P. 29–36.
11. Гуревич А.С. Преадаптация и ее роль в жизни растений // Интродукция, акклиматизация и культивация растений: сб. науч. трудов. Калининград, 1996. С. 3–9.
12. Чупахина Г.Н., Головина Е.Ю. Адаптационный механизм растений Куршской косы // Вестник КГУ. Сер. Экология региона Балтийского моря. 2003. Вып. 1. С. 71–75.
13. Чупахина Г.Н., Иванова Т.С. Содержание антоциановых пигментов как показатель успешности интродукции ореховых // Бюллетень Главного ботанического сада. 2006. Вып. 191. С. 174–187.
14. Майдебура И.С. Влияние загрязнения воздушного бассейна города Калининграда на анатомо-морфологические и биохимические показатели древесных растений: автореф. дис. канд. биол. наук. Калининград, 2006.
15. Чупахина Г.Н., Масленников П.В. Адаптация растений к нефтяному стрессу // Экология. 2004. №5. С. 330–335.
16. Yamasaki H., Uefuji H., Sakihama Y. Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical // Arch. Biochem. Biophys. 1996. V. 332. P. 183–186.
17. Chalker-Scott L. Environmental Significance of Anthocyanins in Plant Stress Responses // Photochemistry and Photobiology. 1999. V. 70. P. 1–9.
18. Rao M.V., Davia K.R. The physiology of ozone induced cell death // Planta. 2001. V. 213. P. 682–690.
19. Gosslau A., Rensing L. Oxidativer Stress, altersabhängige Zellschädigungen und antioxidative Mechanismen // Z. für Gerontologie und Geriatrie. 2002. V. 35. S. 139–150.
20. Полесская О.Г., Каширина Е.И., Алехина Н.Д. Влияние солевого стресса на антиоксидантную систему растений в зависимости от условий азотного питания // Физиология растений. 2006. Т. 53. №2. С. 207–214.
21. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review // Ann. Bot. 2003. V. 91. P. 179–194.
22. Ху Ц.Ц. и др. Воздействие Pb^{2+} на активность антиоксидантных ферментов и ультраструктуру клеток листьев *Potamogeton crispus* // Физиология растений. 2007. Т. 54. №3. С. 469–474.
23. Карташов А.В. и др. Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации дикорастущих видов растений к солевному стрессу // Физиология растений. 2008. Т. 55. №4. С. 516–522.
24. Скрытник Л.Н., Чупахина Г.Н. Влияние селена и цинка на устойчивость растений китайской капусты к окислительному стрессу // Вестник РГУ им. И. Канта. Сер. Естественные науки. Вып. 7. 2007. С. 73–79.
25. Скрытник Л.Н., Чупахина Г.Н. Микроэлемент селен и устойчивость растений ячменя к окислительному стрессу, вызванному светом повышенной интенсивности и дефицитом цинка // Регуляция роста, развития и продуктивно-



сти растений: материалы V Международной научной конференции, г. Минск, 28–30 ноября 2007. Минск, 2007. С. 186.

26. Скрытник Л.Н., Чупахина Г.Н. Влияние селена на активность антиоксидантных ферментов в растениях китайский капусты // Сборник материалов IV съезда Российского общества биохимиков и молекулярных биологов. Новосибирск, 11–15 мая 2008. Новосибирск, 2008. С. 509.

Об авторе

Г.Н. Чупахина – д-р биол. наук, проф., РГУ им. И. Канта, tchou-pakhina@mail.ru

Author

Professor G. N. Tchoupakhina – IKSUR, tchoupakhina@mail.ru

