

1.5.15.[03.02.08] ЭКОЛОГИЯ

1.5.15.[03.02.08] ЭКОЛОГИЯ

1.5.15.[03.02.08] ECOLOGY

УДК -57.026 + 635

**УСТОЙЧИВОСТЬ
ФУНКЦИЙ ФЕРМЕНТОВ
АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ
КЛЕТОК КАРТОФЕЛЯ В
СТРЕССОВЫХ АБИОТИЧЕСКИХ
УСЛОВИЯХ**

Сабуров Бахтиёр Мухидинович, докторант ИБФ и ГРАН Республики Таджикистан, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры биологии и методики его преподавания; **Гафурова Парвина Зиеевна**, докторант первого курса специальности «биология»; **Сабурова Зарина Садридиновна**, магистрант первого курса специальности «биология» ГОУ «ХГУ имени акад. Б.Гафурова»

**ТОБОВАРИИ
ФУНКСИЯҲОИ ФЕРМЕНТҲОИ
АНТИОКСИДАНТИИ СИСТЕМАИ
ҲУҶАЙРАВИИ РУСТАНИИ
КАРТОШКА ДАР ШАРОИТҲОИ
АБИОТИИ СТРЕССӢ**

Сабуров Бахтиёр Мухидинович, докторант институту ботаника, физиология ва генетикаи рустаниҳои АМИТ, номзади илмҳои кишоварзӣ, дотсенти кафедраи биология ва методикаи таълими они; **Гафурова Парвина Зиеевна**, докторант курси якуми ихтисоси биология; **Сабурова Зарина Садридиновна** магистрант курси 1-уми ихтисоси биологияи МТД «ДДХ ба номи акад.Б.Гафуров»

**STABILITY OF ENZYME FUNCTIONS
OF ANTIOXIDANT SYSTEMS OF
POTATO PLANT CELLS UNDER
STRESSIVE ABIOTIC CONDITIONS**

Saburov Bakhtiyor Muhidinovich, Doctoral Student of the Institute of Biology and Physiology and the State Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Biology and Methods of its Teaching, Faculty of Biology and Chemistry, E-mail: saburovbahtiyor@gmail.com; **Gafurova Parvina Zieyevna**, First-Year Doctoral Student on biology of the Faculty of Biology and Chemistry, SEI "KhSU named after acad. B.Gafurov"; **Saburova Zarina Sadridinovna**, First-year Master's Student on Biology of the Faculty of Biology and Chemistry, SEI "KhSU named after acad. B.Gafurov"

Ключевые слова: ферменты антиоксидантной системы картофеля, абиотические стрессы, относительное содержание воды, влажность почвы, устойчивость растений, водный дефицит, районированные сорта картофеля. засоленность

Показано, что при возрастании почвенной засухи, в зависимости от степени устойчивости к стрессовому воздействию экспериментальных листьев сортов картофеля Карими и Монитоу по величине потери воды между собой различаются. С прекращением полива в начальный период засухи потеря воды у исследуемых сортов незначительно снижается и составляет у сорта Монитоу спустя 8 дней - 27%, а через 10 дней – 36.0%. Устойчивый районированный сорт «Карими» имел небольшой водный дефицит – 17%.

Под воздействием водного дефицита активность ферментов глутатион редуктазы (ГР) и аскорбатпероксидазы (АскП) изменялась по-разному, у исследованных генотипов - сортов. Показатели активности ГР и АскП в листьях картофеля сорта Карими при усилении засухи возрастали, и, наоборот, у неустойчивого сорта Монитоу в этих же условиях наблюдалось ингибирование активности этих ферментов.

Калидвожаҳо: ферментҳои антиоксидантии картошка, стрессҳои абиотики намнокии хок, миқдори нисбии об, намноки хок устувориҳои рустаниҳо, танқисии об, сортҳои ноҳиябандикардашудаи картошка, шӯрхокишавӣ.

Аз натиҷаҳои ба даст омада бармеояд, ки навъҳои ба шароити стрессии номусоид тобовар ва серҳосил дорои хусусияти нисбатан ками талафоти об мебошанд, ки ин устуворнокии ин навъҳоро нисбат ба таъсири аботики стресси тавсиф менамояд.

Дар зер таъсири норасогии об фаъолнокии ферментҳои муҳофизатии глутатионредуктаза (ГР) ва аскорбатпероксидаза (АскП) дар генотипҳои (навъҳои) омӯхташуда ба таври гуногун тағйир ёфтанд. Нишондиҳандаҳои фаъолнокии ГР ва АскП дар баргҳои картошкаи навъи Карими ҳангоми шиддатёбии хушкӣ зиёд гардиданд ва ин ҳолат баъд аз 8 ва 10 рӯзи хушкӣ ба қайд гирифта шуд. Баръакс, дар навъи ба хушкӣ ноустувори Монитоу вобаста ба шиддатёбии хушкӣ наст шудани фаъолнокии ин ферментҳо мушоҳида шуда мебошад.

Keywords: *enzymes of the antioxidant system of potato, abiotic stresses, relative water content, soil moisture, plant resistance, water deficit, zoned potato varieties. salinity*

It is shown that with increasing soil drought, depending on the degree of resistance to stress effects of experimental leaves of the potato varieties Karimi and Monitou, the magnitude of water loss differs. With the cessation of irrigation in the initial period of drought, the water loss in the studied varieties is slightly reduced and is 27% for the Monitou variety after 8 days, and 36.0% after 10 days. The resistant zoned variety "Karimi" had a slight water deficit - 17%.

Under the influence of water deficiency, the activity of the enzymes glutathione reductase (GR) and ascorbate peroxidase (AskP) changed differently in the studied genotypes - varieties. The activity indices of GR and AskP in the leaves of the Karimi potato variety increased with increasing drought, and, conversely, in the unstable Monitou variety, inhibition of the activity of these enzymes was observed under the same conditions.

В настоящие время по всему миру в последние годы учеными изучаются физиолого-биохимические и молекулярные основы устойчивости растений к негативному воздействию различных абиотических стрессоров (влажность, свет, температуры особенности рельефа химический состав атмосферы и т.д.). Изучение этих проблем стало сейчас особенно актуальным в связи с глобальными изменениями климата во всем мире, провоцирующим засухи и засоленность почвы, которые в свою очередь негативно влияют на продуктивность стратегических сельскохозяйственных растений на примере картофеля.

Выявлено что засуха с засолением приводят к усиленному образованию активных форм кислорода (АФК), продуктом которого являются супероксид-анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал ($\cdot OH$) и перекись водорода (H_2O_2) [1].

Выявлено, что накопление АФК имеется также и в хлоропластах, из-за отсутствия баланса скорости переноса электронов и активности ферредоксин-никотинамидадениндинуклеотидфосфат-оксиредуктазы (НАДФ.Н-редуктазы) в неоптимальных условиях экологических стрессов. Установлено, что детоксикация АФК связана с активацией антиокислительной системы, как ферментативной, так и не ферментативной, в которой участвуют низкомолекулярные компоненты (аскорбат, глутатион, α -токоферол, каротиноиды). Разрушение H_2O_2 осуществляется в реакциях аскорбат/глутатионового цикла с участием ферментов аскорбатпероксидазы (АскП), каталазы. Последние имеют низкое родство с перекисью водорода [3]. С помощью этих механизмов происходит детоксикация и удаление образующихся токсических продуктов. Отмечено, что активность этих систем-механизмов имеет генотипические различия и варьируют также в процессе развития растений в нормальных условиях, но особенно ярко проявляются при воздействии стрессоров [4].

В связи с этим, важно было выявить существование конкурентных механизмов устойчивости и продуктивности растений. Для этого необходимо оценить эффективность работы антиокислительных систем у разных по устойчивости и продуктивности растений в условиях стресса.

Основной целью наших исследований явилось сравнительное изучение негативного воздействия водного дефицита в разных выращиваемых генотипов растения картофеля, различающихся по уровню устойчивости и продуктивности в условиях возделывания.

Материалы и методы исследования

Нашими объектами исследований служили разные сорта растения картофеля (*Solanum tuberosum*): устойчивый к неблагоприятным условиям засухи районированный сорт Карими и неустойчивый к неблагоприятным факторам засухе сорт Монитоу. Данные сорта растения выращивались в сосудах, объемом 12 л, в торфо-почвенной смеси в соотношении 1:1. После появления всходов вносили азотные удобрения и поливали, согласно рекомендациям «Международного центра по развитию семеноводству картофеля СИП».

После появления 3-4 листьев, растения опытного варианта прекращали поливать. Контрольные растения поливали через день, поддерживая влажность почвы на уровне 70% от полной её влагоёмкости.

Третий лист сверху использовали для анализа через 8, 10 и 12 дней после прекращения полива. Влажность почвы у опытного варианта на 8, 10 и 12-й день засухи составила 59, 50 и 44%.

Активность ферментов определяли в гомогенатах, полученных из листьев (0.8 г). Листья охлаждали до 24°C и быстро растирали в 3 мл буфера, содержащего 0.01 мМ трис-НСL-буфер (рН=7-8), 0.004 мМ MgCL₂, 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (БСА) и 0.01 М NaCL.

Гомогенат фильтровали и центрифугировали при 3100 об/мин в течение 15 мин. В супернатанте определяли активность ферментов. Активность НАДФ.Н зависимый ферродоксин – НАДФ⁺ - оксидоредуктазы определяли при 27°C. Реакционная смесь: 27 мМ трис-НСL-буфер (рН=8.0), 10 мМ NaCL, 3 мМ MgCL, 0.04 мМ дихлорфенолиндофенол (ДХФИФ) в качестве акцептора Н⁺) и в 110 мкл супернатанте определяли оптическую плотность проб, измеряли в темноте при 580 нм, до начала и после экспозиции в течение 25 с. Контролем служили пробы без НАДФ.Н (неферментативное восстановление ДХФИФ). Активность рассчитывали в микромолях восстановленного ДХФИФ/г сырой массы.

Активность аскорбатпероксидазы определяли в супернатанте, по скорости окисления аскорбиновой кислоты, полученной экстракцией с буфером, содержащим 0.2М НЕРЕС–КОН-буфер (рН=8.0), 1мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), 0.5 мМ аскорбиновой кислоты и супернатант 110 мкл центрифугировали при 2100 об/мин, в течение 10 мин., общий объём реакционной смеси составил 4 мл.

Измерение проводили при 278 нм с добавлением перекиси водорода (H₂O₂) и через 27 с фиксировали уменьшение величины поглощения. Контролем служило неферментативное окисление аскорбиновой кислоты $\epsilon=0.81$ мМ/см. Активность рассчитали в микромолях окисленной аскорбиновой кислоты (г.сырой массы/мин.).

Образование малонового диальдегида (МДА) определяли с помощью тиобарбитуровой кислоты ТБК [5].

Инкубационная смесь: 0.4-0.5 г растительного материала растирали в ступке с 4 мл 0.3% трихлоруксусной кислотой (ТХУ). Гомогенат центрифугировали в течение 10 минут при 3100 об/мин.

К 1 мл супернатанта добавили 5 мл 0.7% ТБК в 25% ТХУ. Смесь нагревали на водяной бане 20 мин., охлаждали во льду и центрифугировали при 3100 об/мин., в течение 15 мин. Оптическую плотность измеряли при 445 нм и 620 нм. Концентрацию МДА рассчитывали после вычитания неспецифического поглощения при 620 нм. Использовали коэффициент экстинкции $\epsilon=1.59-109$ м/см, и выражали в мкмоль/г сырой массы.

Результаты исследования и их обсуждение

Для создания почвенной засухи растения-регенеранты выращивали в торфо-почвенной смеси в соотношении 1:1. Данные, представленные в табл. 1, показывают, что на начальной стадии в листьях исследуемых растений картофеля происходила незначительная потеря воды, но наблюдались различия, в зависимости от степени устойчивости сортов.

Таблица 1

Относительное содержание воды (ОСВ) в листьях картофеля при продолжительной воздействии засухи

| Сорта картофеля | Продолжительность засухи, дни | | | | Водный дефицит, % | | | |
|-----------------|-------------------------------|------|------|------|-------------------|------|------|------|
| | 0 | 8 | 10 | 12 | 0 | 8 | 10 | 12 |
| Карими | 0.88 | 0.85 | 0.73 | 0.65 | - | 4.7 | 14.8 | 16.2 |
| Монитоу | 0.86 | 0.77 | 0.64 | 0.54 | - | 14.9 | 26.2 | 35.7 |

По мере возрастания засухи, через 8-9 дней показатели ОСВ резко снижались. Так, у сорта Карими, спустя 8 дней после засухи, этот показатель составил – 0.85%, а после 8-10 дней наблюдалось наибольшее снижение этого показателя по сравнению с 5 дневной засухой, и составил 0.73% и 0.65%, соответственно. У сорта Монитоу показатель ОСВ составил 0.77%, и после 8-10 дней усиления засухи снижение составило 0.64% и 0.54%, соответственно. Водный дефицит растений сортов Карими изменялся незначительно и спустя 8-10 дней составил 14.8 - 16.2%, соответственно. У

сорта Монитоу показатель ОСВ изменялся значительно больше по мере повышения засухи, и водный дефицит составлял 14.9%, а после 8-10 дневной засухи - 26.2% и 35.7%, соответственно. Данные опыта указывают, что при возрастании почвенной засухи, листья картофеля в показателях потери воды имели различия, в зависимости от устойчивости сортов к стрессу.

Обычно действие стрессового фактора водного дефицита связывают с активностью фермента глутатионредуктазы. Как показывают результаты табл. 2, под влиянием засухи (8-10 дневной) активность глутатионредуктазы (ГР) у сорта Монитоу снижалась на 28-37%, а при 5 дневной засухе активность фермента была на уровне контроля.

Таблица 2

Активность глутатионредуктазы в листьях картофеля при продолжительной засухе (мкмоль/мг белка)

| Сорта картофеля | Продолжительность засухи, дни | | | | Активность % | | | |
|-----------------|-------------------------------|-------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 8 | 10 | 12 | 0 | 8 | 10 | 12 |
| Карими | 106,6 | 127,5 | 133,6 | 138,9 | 100 | 120,9 | 126,6 | 134,2 |
| Монитоу | 104,5 | 97,3 | 71,0 | 62,9 | 100 | 99,4 | 73,6 | 64,9 |

В то же время, у сорта Карими активность ГР во всех периодах засухи увеличивалась. Так, при 8 дневной засухе активность ГР увеличивалась на 130%, после 8 дневной - 126%, при 10 дневной - 128%. Примерно такие же результаты были получены при определении активности аскорбатпероксидазы (АскП). В листьях испытуемых сортов активность АскП у контрольных растений практически была одинаковой (табл. 3). Возрастание активности АскП наблюдалось у сорта Карими после 8-10 дневной засухи. При кратковременной засухе (5 дневной) активность АскП практически была такой же, как у контрольных растений. Активность АскП у сорта Монитоу, наоборот, снижалась по мере возрастания засухи. Так, при 8 дневной засухе, активность АскП снижалась на 23.3%, при 10дневной на 25.7%, при 12 дневной на 28%, по сравнению с контрольными растениями.

Таблица 3

Активность аскорбатпероксидазы в листьях картофеля при продолжительной засухе (мкмоль/мг белка)

| Сорта картофеля | Продолжительность засухи, дни | | | | Активность АскП, % | | | |
|-----------------|-------------------------------|------|------|------|--------------------|------|------|------|
| | 0 | 8 | 10 | 12 | 0 | 8 | 10 | 12 |
| Карими | 29,5 | 19,5 | 26,4 | 27,9 | 100 | 17,6 | 16,4 | 9,8 |
| Монитоу | 29,3 | 17,8 | 19,7 | 18,5 | 100 | 23,3 | 25,7 | 27,9 |

Снижение активности ГР и АскП при засухе отрицательно сказывалась на продукции перекисного окисления липидов (ПОЛ), который измеряется по образованию малонового диальдегида (МДА). Как видно из данных табл. 4, по мере возрастания засухи, интенсивность образования МДА увеличивалась, но у разных сортов это происходит по-разному. Под влиянием засухи (8 дней) у сорта Карими содержание МДА было близко к контролю. По мере возрастания засухи (8-10 дней), накопление МДА незначительно увеличивалось и составило 13-25%, соответственно, по отношению к контрольным растениям.

Таблица 4

Содержание МДА в листьях картофеля при продолжительной засухе (мкмоль/мг белка)

| Сорта картофеля | Продолжительность засухи, дни | | | | Активность МДА, % | | | |
|-----------------|-------------------------------|---|----|----|-------------------|---|----|----|
| | 0 | 8 | 10 | 12 | 0 | 8 | 10 | 12 |

| | | | | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-------|
| Карими | 115,7 | 118,8 | 124,4 | 134,8 | 100 | 113,6 | 117,3 | 125,3 |
| Монитоу | 112,0 | 136,3 | 158,3 | 180,0 | 100 | 123,3 | 156,3 | 174,7 |

При возрастании засухи у сорта Монитоу накопление МДА увеличивалось во всех вариантах опыта. При 8 дневной засухе накопление МДА составило 123%, при 8 дневной – 156% и при 10 дневной 175% по отношению к контролю.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у устойчивого и продуктивного сорта Карими наблюдается относительно низкий водный дефицит, что характеризует толерантность этого сорта к стрессу. По мере увеличения водного дефицита у этого сорта наблюдается небольшая скрученность листьев, являющаяся морфологическим признаком адаптивности растений к стрессу и, несомненно, этот признак можно использовать как индикатор устойчивости.

Заклучение

На основе полученных данных результатов можно заключить, что при возрастании почвенной засухи листья изученных сортов картофеля по показателям потери воды имеют различия в зависимости от степени устойчивости сортов к стрессу. Устойчивый и продуктивный сорт Карими имел небольшой водный дефицит до (17%), в то время как у неустойчивого сорта Монитоу водный дефицит в этих же условиях был высоким и составлял от 27% до 38%, соответственно.

Под воздействием водного дефицита, активность ГР и АскП у исследованных сортов изменялась по-разному. Показатели активности ГР и АскП в листьях картофеля сорта Карими при усилении засухи возрастали незначительно, причем значительное усиление было отмечено после 8 и 10 дней засухи, и, наоборот, у неустойчивого сорта Монитоу по мере возрастания засухи наблюдалось значительное ингибирование активности этих ферментов.

В связи с этим, следует отметить, что у устойчивого сорта наблюдалось координированное взаимодействие активности ГР и АскП, которая поддерживала степень перекисного окисления липидов (ПОЛ), близкой к контрольным растениям. Такое скоординированное усиление активности этих ферментов поддерживало незначительное накопление МДА в условиях засухи, особенно на первых этапах действия стрессора (8,10 дневной засухи) и при дальнейшем усилении засухи (12 дней), спровоцировало усиление МДА, хотя в незначительном количестве.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алиев, У.А., Каримов, Т. А. Продуктивность генотипов картофеля в зависимости от агроэкологических зон Северного Таджикистана/ журнал Земледелец 2021 г.н 3 84-с.78-85.
2. Алиев, К.А., Каримова, Ф.Б. Проблемы развития элитного картофелеводства в условиях предгорных регионов Таджикистана. Труды межд.конф Проблемы устойчивого развития семеноводство картофеля в условиях Средней Азии.-Тезисы докл Душанбе.-2017-с. 107-115.
3. Анваров Н.Д. Урожайность и качественные характеристики оздоровленных сортообразцов картофеля в условиях Северного Таджикистана.- дис док. с.х.н. Душанбе -2012г-205с.
4. Бободжонов А.Т. Повышение продуктивности генотипов картофеля с использованием способов, усиливающих адаптационные метаболизмы растений в условиях абиотических стрессов. Автореф.дисс к.с.н Узбекистан.-2018г-89с.
5. Бободжонов А.Т. Эффективность возделывания интродуцированных генотипов картофеля в агроэкологических условиях Северного Таджикистана. Известия ТГНУ Душанбе -2019г-н2 37-с.175-184.
6. Барановская Н.Ю. Антиоксидантная система в клетке растений. Витин Ф.Б-Основы цитологии.-2015г.т.41.-с.127-137.'
7. Баротов М.С. Физиолого-биохимические показатели окислительных процессов у растения картофеля. Известия НАН.РТ- Душанбе 2019г н 2.- с109-114.
8. Вохидов Т.Ю. Ферментативные системы растений и их проявления на негативные воздействия абиотических стрессов. Доклады НАН.РТ.2020 г.т 52.н 2-3.с 78-84 с

REFERENCES:

1. Aliyev U.A. Karimov T. A. Productivity of potato genotypes and dependence on agro-ecological zones of Northern Tajikistan/ journal Zemledelets 2021 3 84. P. 78-85.

2. Aliyev K.A. Karimova F.B. Problems of development of elite potato growing in the conditions of foothill regions of Tajikistan. Trudy mezhd.konf Problems of sustainable potato seed development in the conditions of Middle Asia.-Tezisy dokl Dushanbe, 2017. P. 107-115.
3. Anvarov N.D. Yield and quality characteristics of improved varieties of potatoes in the conditions of Northern Tajikistan. - dis doc. s.kh.n. Dushanbe, 2012 205 p.
4. Bobodjonov A.T. Increasing the productivity of potato genotypes using methods that increase adaptational metabolism of plants in the conditions of abiotic stress. Autoref. diss. K.S.N Uzbekistan. 2018. 89 p.
5. Bobodjonov A.T. Effectiveness of cultivation of introduced potato genotypes in agroecological conditions of Northern Tajikistan. Izvestia TGNU Dushanbe -2019g-n2 37. P. 175-184.
6. Baranovskaya N.Yu. Antioxidative system in plant cells. Vitin F.B-Osnovy cytologii. 2015. V.41. P.127-137.'
7. Barotov M.S. Physiological and biochemical indicators of oxidative processes and potato plants. Izvestiya NAN.RT- Dushanbe 2019 n. 2. P. 109-114.
8. Vohidov T.Yu. Enzymatic systems of plants and their manifestations and negative effects of abiotic stresses. Reports of NAN.RT.2020 g.t. 52.n. 2-3. P. 78-84.