

INFLUENCE OF ASCORBIC ACID ON THE PRO- AND ANTIOXIDANT POTATO SYSTEM IN CONDITIONS OF SALT STRESS

Chebonenko O.V., Amirkulova A.Zh., Tursunova A.K., Sapko O.A., Abayldaev A.O., Utarbayeva A.Sh.

*M.A. Aitkhozhin institute of molecular biology and biochemistry,
86, Dosmukhamedov str., Almaty, Kazakhstan
olessjachebonenko@mail.ru*

ABSTRACT

Ascorbic acid (AC) is a low-molecular antioxidant that plays a key role in regulating the level of reactive oxygen species (ROS) and products of lipid peroxidation (LPO) in plant cells and also participates in some physiological processes in plants. Ascorbic acid functions to remove many free radicals and to minimize the damaging effects of oxidative stress. Plants resistant to drought and salinity are characterized by higher levels of ascorbic acid, which are actively involved in the regulation of ROS under stress. We investigated the effect of exogenous ascorbic acid at a concentration of 10 mM on the activity of key antioxidant enzymes (AOEs): superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD), and pro-oxidant levels (H_2O_2 , LPO) in the potato varieties 'Axor' and 'Orbit' under conditions of salt stress. There were no significant varietal differences in the levels of pro- and antioxidant responses to ascorbic acid treatment. It was shown that ascorbic acid in shoots induced generation of H_2O_2 and reduced the level of LPO two-fold under salt stress. Ascorbic acid differentially regulates the activities of enzymes under saline conditions. The greatest impact of ascorbic acid was observed on SOD and APX in shoots, with a two-fold increase in their activity. The activity of CAT and POD increased 1.5–2-fold under the combined effects of ascorbic acid and salinity. Thus, ascorbic acid can regulate the level of response of the antioxidant system of potato plants to salinity. Antioxidant enzymes have an active role in neutralizing ROS and adapting plants to stressful conditions.

Keywords: potato, salinity resistance, ascorbic acid (AC), antioxidant enzymes (AOE), hydrogen peroxide (H_2O_2), lipid peroxidation (LPO).

УДК 581.19; 576.3; 581.143.6

ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМЫ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА

Чебоненко О.В., Амиркулова А.Ж., Турсунова А. К., Сапко О.А., Абайлдаев А.О., Утарбаева А.Ш.

*Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина
ул. Досмухамедова, 86, Алматы, Казахстан
olessjachebonenko@mail.ru*

АБСТРАКТ

Аскорбиновая кислота (АК) – низкомолекулярный антиоксидант, играющий одну из ключевых ролей в регуляции уровня активных форм кислорода (АФК), продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клетках растений и влияет на физиологические процессы растений. Функция АК – восстановление многих свободных радикалов и минимизация разрушения окислительного стресса. Было показано, что устойчивые к засухе и засолению растения отличаются более высоким уровнем АК, активно вовлекающейся в регуляцию АФК при стрессе.

Нами были проведены работы по изучению действия экзогенной АК в концентрации 10 мМ на активность ключевых антиоксидантных ферментов (АОФ): супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), аскорбатпероксидазы (АПО), пероксидазы (ПО) и уровень

прооксидантов (H_2O_2 , ПОЛ) в растениях картофеля сортов «Аксор» и «Орбита» в условиях солевого стресса. Значительных сортовых различий по уровню отклика про- и антиоксидантов на действие АК не выявлено. Показано, что АК в побегах индуцирует генерацию H_2O_2 и снижает уровень ПОЛ в 2 раза при солевом стрессе. Наибольшее влияние АК оказала на СОД и АПО в побегах, увеличив их активность в 2 раза при засолении. Активность КАТиПО повысилась в 1,5-2 раза при совместном влиянии АК и засоления. Таким образом, показано, что АК может регулировать уровень ответа антиоксидантной системы при формировании устойчивости растений картофеля к засолению. АОФ принимают активное участие в нейтрализации АФК и адаптации растений к стрессовым условиям.

Ключевые слова: картофель, солевой стресс, аскорбиновая кислота (АК), антиоксидантные ферменты (АОФ), перекись водорода (H_2O_2), перекисное окисление липидов (ПОЛ).

ВВЕДЕНИЕ

Засоление является одним из наиболее распространенных неблагоприятных факторов окружающей среды [1]. По оценке ФАО около 22% мировых земель являются засоленными, и ежегодно на 1-2% сокращается площадь орошаемых земель на планете [2]. Как известно, засоление вызывает у растений осмотический стресс, токсическое действие избыточного содержания неорганических ионов, прежде всего ионов натрия и хлора, ионный дисбаланс и окислительный стресс, следствием чего является избыточная генерация АФК, нарушение клеточного метаболизма и снижение продуктивности культурных растений [3].

Степень устойчивости растений к солевому стрессу варьирует как у разных видов, так и у разных сортов одного и того же вида. В условиях возрастающей нестабильности климата понимание физиологических основ различий в устойчивости к действию неблагоприятных внешних факторов важно для создания новых высокопродуктивных сортов. В связи с этим необходимо изучать конкретные механизмы, обеспечивающие устойчивость растений к действию засоления и других стрессов.

Процесс адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды, в том числе и к засолению, происходит при активном участии антиоксидантной системы, контролирующей в клетках уровень АФК. Эффективность функционирования антиоксидантной системы определяется состоянием общего антиоксидантного потенциала, который обусловлен уровнями низкомолекулярных компонентов и активностью антиоксидантных ферментов (АОФ). К числу АОФ относят СОД, КАТ, ПО, а также ферменты аскорбат-глутатионового цикла – АПО, глутатионредуктазу (ГР), дегидроаскорбатредуктазу (ДАР) [4, 5, 6]. К низкомолекулярным антиоксидантам относят АК, глутатион, токоферол, каротиноиды, антоцианы, эндогенные хелаторы металлов, фенолы, флавоноиды и алкалоиды [7, 8, 9].

АК является полифункциональным соединением и выполняет такие важные функции как: участие в регуляции активности ферментов, детоксикации перекиси водорода (H_2O_2), клеточном делении и растяжении [10], процессах роста и развития, водном обмене, процессах фотосинтеза и дыхания [11], а также в защитных реакциях растений. Кроме того, она может непосредственно реагировать с супероксидными анион-радикалами, молекулярным синглетным кислородом и гидроксильными радикалами [12], и участвует в регенерации молекул зеаксантина и токоферола [13].

В ряде работ показана роль АК в формировании устойчивости растительных организмов к неблагоприятным условиям, в том числе к засолению. Антиоксидантный эффект главным образом реализуется посредством ее участия в работе ферментативных антиоксидантов [14, 15]. Однако механизмы защитного действия выяснены недостаточно.

В связи с этим целью работы было изучение действия экзогенной АК на регуляцию активности ключевых АОФ и уровень прооксидантов (H_2O_2 , ПОЛ) при действии солевого стресса на растения картофеля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследований использовали 3-недельные пробирочные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта «Аксор» и сорта «Орбита», относительно устойчивых к стрессовым факторам среды. Растения выращивали на агаризованной питательной среде Мурасиге-Скуга при температуре $25 \pm 1^\circ C$, освещенности 3000 люкс и фотопериоде 16/8 ч (свет/темнота) в течение 3-х недель.

Для моделирования условий засоления использовали стрессовый агент NaCl в концентрации 0,1 М, который добавляли в полужидкую питательную среду, куда затем помещали 3-недельные

пробирочные растения картофеля. На этой среде растения культивировались 24 часа. После этого растения картофеля обрабатывали стерильным раствором АК в концентрации 10 мМ путем опрыскивания (по 1 мл раствора на одно растение). АК стерилизовали пропусканием через фильтр Millipore, 0,22 мкм. Контрольный вариант обрабатывали дистиллированной водой. Сбор образцов растений картофеля (надземная часть, корень) проводили через 24 часа.

Содержание H_2O_2 определяли с использованием ксиленолового-оранжевого по методу Gay [16]. Навеску растительного материала (0,2-0,3 г) замораживали в жидком азоте, растирали в фарфоровой ступке в 1,5 мл 0,05 М боратного буфера (рН 8,4) и центрифугировали 5 минут при 12000 g. Реакционная смесь содержала 0,2 мл супернатанта анализируемого образца, 1 мл 125 мкМ раствора ксиленолового-оранжевого, содержащего 100 мМ сорбитола и 10 мкл раствора, содержащего 25 мМ $(NH_4)_2SO_4$, 25 мМ $FeSO_4$ и 2,5 М H_2SO_4 . Смесь перемешивали и инкубировали 30 минут при комнатной температуре. Оптическую плотность регистрировали при 560 нм против H_2O . Для количественных определений использовали калибровочную кривую, построенную с H_2O_2 .

Интенсивность ПОЛ анализировали по накоплению в клетках растений малонового диальдегида (МДА), определяемого по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [17]. Для определения содержания МДА 0,3 г растительного материала гомогенизировали в 5 мл раствора выделения (0,1 М Tris-HCl буфер, рН 7,6, содержащий 0,35 М NaCl). К 3 мл гомогената добавляли 2 мл 0,5% раствора тиобарбитуровой кислоты в 20% трихлоруксусной кислоте. Пробирки кипятили в течение 30 минут на водяной бане, фильтровали и измеряли поглощение при 532 нм. Контролем служил раствор, состоящий из 3 мл среды выделения и 2 мл ТБК в ТХУ. Расчет концентрации МДА проводили по молярной экстинкции.

Для анализа ферментативной активности 0,3-0,4 г растительного материала гомогенизировали в 3 мл 0,05 М Tris-HCl-буфера (рН 7,8), содержащего 1 мМ Na_2EDTA , 3% растворимого поливинилпирролидона, 5 мМ меркаптоэтанол, и центрифугировали 20 минут при 10000 g. Все операции проводили при 4°C.

Активность КАТ определяли по распаду H_2O_2 при 240 нм в Na-фосфатном буфере (рН 6,5). Реакционная смесь содержала 2 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера (рН 6,5), 100 мкл H_2O_2 (конечная концентрация 12,5 мМ), 50 мкл анализируемого образца. Коэффициент экстинкции H_2O_2 при 240 нм $0,040 (mM \cdot cm)^{-1}$. Активность фермента выражали в $\mu M H_2O_2 / (mg \text{ белка} \cdot min)$ [18].

Активность АПО определяли по разложению аскорбиновой кислоты при 290 нм в Tris-HCl-буфере (рН 7,8). Реакционная смесь содержала 2 мл 0,2 М Tris-HCl-буфера (рН 7,8), 100 мкл 5,6 мМ аскорбиновой кислоты, 100 мкл 11,25 мМ H_2O_2 , 100 мкл анализируемого образца. Коэффициент экстинкции аскорбиновой кислоты при 290 нм $2,8 (mM \cdot cm)^{-1}$. Активность фермента выражали в μM аскорбата / (мг белка · мин) [19].

Суммарную активность СОД определяли по методу [20]. Активность фермента определяли, используя 50 мМ К-фосфатный буфер (рН 7,8), содержащий 0,1 мМ Na_2EDTA , 150 мМ нитро-синего тетразолия и 26 мМ метионина. Реакцию запускали добавлением к 180 мкл 150 мМ нитро-синего тетразолия и 5 мкл супернатанта 180 мкл 8 мМ рибофлавина с последующей инкубацией на свету (лампа дневного света, 33 ватт, 20 мин). Оптическую плотность измеряли при 560 нм. За единицу активности принимали 50% ингибирования образования формазана. Активность фермента выражали в ед. акт. / (мг белка · мин).

Для определения активности ПО 0,3 г растительного материала гомогенизировали в 3 мл 0,05 М ацетатного буфера (рН 5,6) и центрифугировали 15 минут при 11000 g. Супернатант использовали для определения активности растворимой (цитоплазматической) ПО. Осадок (клеточные стенки) 2 раза промывали 0,05 М ацетатным буфером центрифугированием в течение 5 минут при 11000 g. После этого удаляли надосадочную жидкость, добавляли 0,8-1 мл 1 М NaCl, инкубировали 12 ч при 4°C, снова центрифугировали 5 минут при 11000 g и определяли активность связанной формы ПО. Реакционная смесь содержала 1,8 мл 0,05 М ацетатный буфер, 0,1 мл 6,4 мМ о-дианизидина, 0,1 мл 15 мМ раствора H_2O_2 и 0,01 мл экстракта. Активность ПО отмечали по начальной скорости окисления о-дианизидина при комнатной температуре при 460 нм. Скорость реакции определяли по тангенсу угла наклона начальных участков кинетических прямых изменения оптической плотности во времени [21].

Количество белка определяли микробиуретовым методом [22].

Все определения проводились в 3-х биологических и аналитических повторностях. Данные представлены в виде средних значений и их стандартных ошибок.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований значительных сортовых различий по уровню отклика про- и антиоксидантов на действие АК не выявлено. Показано, что через 24 часа после обработки растений картофеля в побегах обоих сортов АК снижала уровень ПОЛ в 2 раза при солевом стрессе. На корни АК практически не повлияла, уровень ПОЛ там снизился лишь на 12-15% (рис. 1).

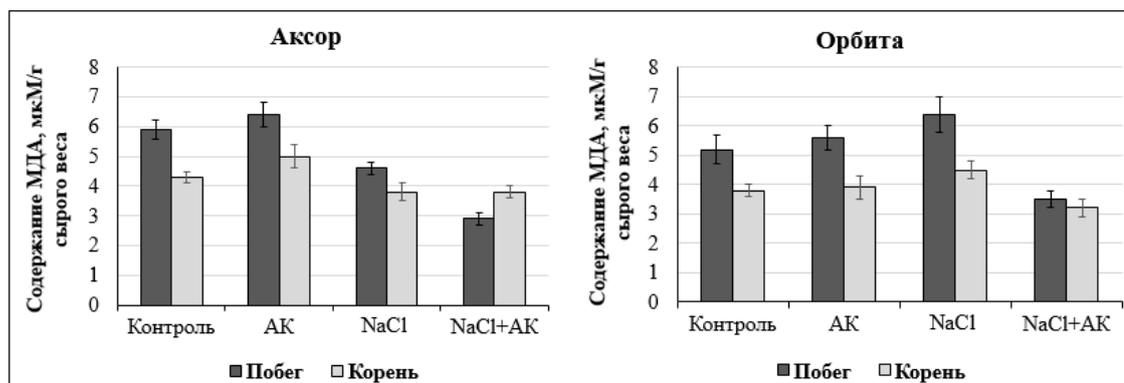


Рис. 1. Влияние АК на интенсивность ПОЛ в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 1. Effect of AC on the intensity of LPO in potato plants under the influence of salt stress

Содержание H_2O_2 при добавлении АК незначительно увеличивается при засолении в побегах в 1,5-2 раза и в корнях на 1,2-1,4 раза по сравнению с контрольным вариантом. При раздельном действии АК и солевого стресса количество H_2O_2 находится практически на уровне контроля как в побегах, так и в корнях (рис. 2).

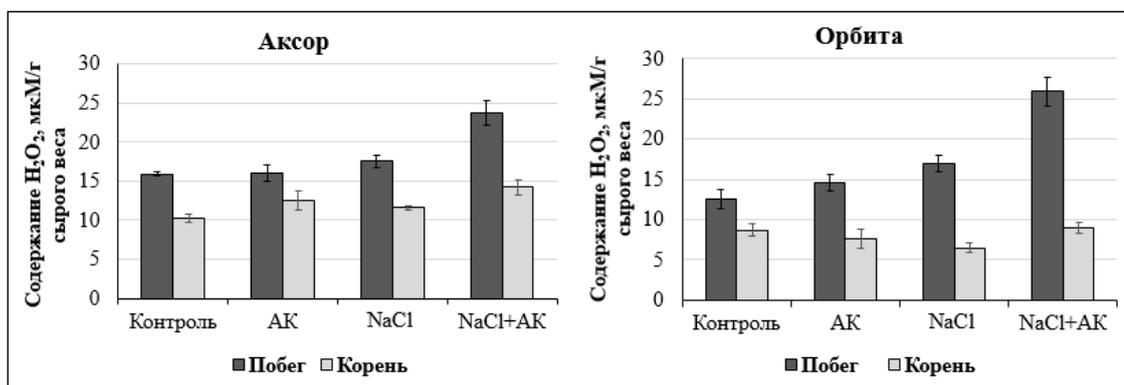


Рис. 2. Влияние АК на содержание H_2O_2 в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 2. Effect of AC on the content of H_2O_2 in potato plants under the influence of salt stress

АК по-разному регулирует на активность антиоксидантных ферментов в условиях засоления. Показано, что АК в условиях засоления индуцирует активность СОД в побегах сорта «Аксор» в 2 и 1,2 раза в сорте «Орбита». При действии АК и NaCl по отдельности в побегах двух сортов картофеля активность фермента колебалась в пределах контроля. На активность СОД в корнях все три обработки растений достоверно не повлияли (рис. 3).

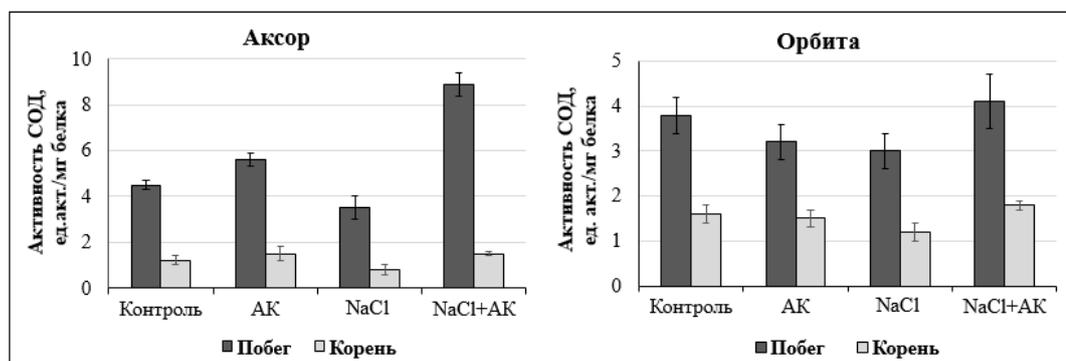


Рис. 3. Влияние АК на активность СОД в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 3. Effect of AC on the activity of SOD in potato plants under the influence of salt stress

Анализ совместного влияния АК и засоления на активность КАТ в побегах картофеля разных сортов заметно различался. В сорте «Аксор» АК повышала активность фермента на 80%, а в сорте «Орбита» только на 6%. В корнях же АК активировала КАТ лишь на 15-20%. При отдельном действии АК и солевого стресса активность варьировала на уровне контрольного варианта (рис. 4).

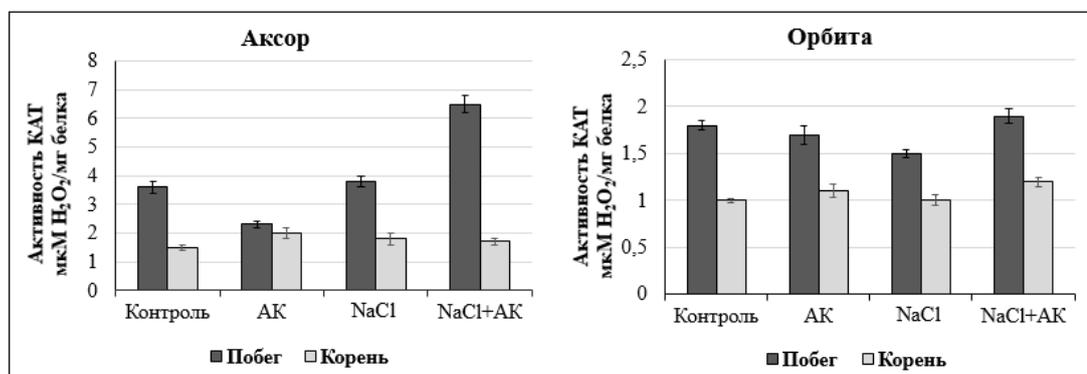


Рис. 4. Влияние АК на активность КАТ в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 4. Effect of AC on the activity of CAT in potato plants under the influence of salt stress

Для АПО побегов сорта «Аксор» было показано, что действие АК при совместном влиянии с засолением повышало активность фермента в 2 раза и в 1,5 раза для сорта «Орбита». Обработка растений картофеля обоих сортов АК и NaCl в отдельности мало повлияла на активность АПО. В корнях двух сортов картофеля все виды обработок фактически не оказали заметного влияния на АПО (рис. 5).

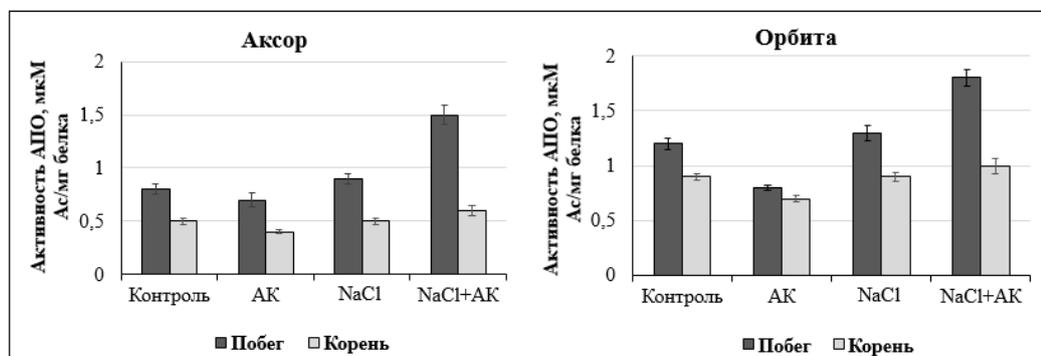


Рис. 5. Влияние АК на активность АПО в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 5. Effect of AC on the activity of APX in potato plants under the influence of salt stress

Активность растворимых форм ПОв побегах двух сортов картофеля увеличивалась в 1,5-2 раза выше контроля после обработки растений АК в условиях солевого стресса, в корнях активность одинаково повышалась у обоих сортов только в 1,5 раза. При действии АК и NaCl по отдельности активность увеличивалась в 1,2-1,4 раза как в побегах, так и в корнях (рис. 6).

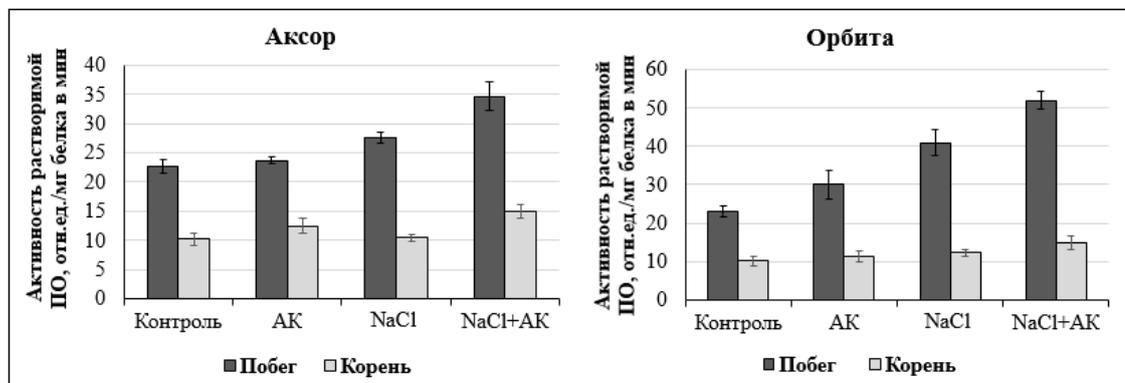


Рис. 6. Влияние АК на активность растворимых форм ПО в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 6. Effect of AC on the activity of soluble forms POD in potato plants under the influence of salt stress

При совместном действии АК и солевого стресса активность связанных форм ПО повышалась в 1,5-2 раза в побегах и в корнях обоих сортов картофеля. Само по себе засоление вызывало небольшую индукцию ПО в 1,2-1,5 раза в побегах и корнях. При действии АК активность ПО изменялась незначительно (рис. 7).

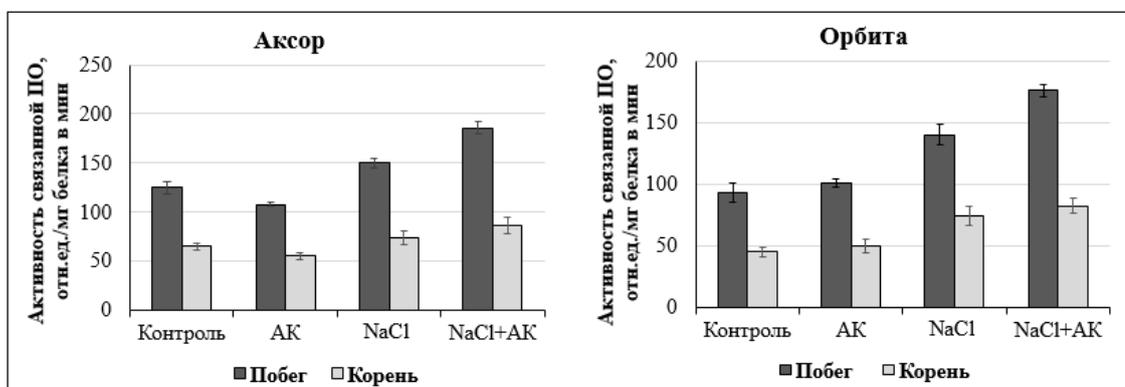


Рис. 7. Влияние АК на активность связанных форм ПО в растениях картофеля при действии солевого стресса

Fig. 7. Effect of AC on the activity of bound forms POD in potato plants under the influence of salt stress

ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе накоплен довольно большой объем экспериментальных данных, свидетельствующих о роли аскорбиновой кислоты в защите растительных клеток от окислительных повреждений при действии стрессоров. Так, показано, что под влиянием экзогенной АК повышались устойчивость растений к различным факторам окружающей среды и активность антиоксидантных ферментов. Это наблюдалось у многих видов растений. Сравнительные исследования ответа растений на действие АК в условиях засоления позволяют проанализировать функционирование систем антиоксидантной защиты, а также сопоставить защитный эффект АК и антиоксидантных ферментов в условиях стресса. Кроме того, это дает возможность исследовать органную специфику ответа растения на действие АК и засоления, поскольку корни и надземные органы реагируют дифференцировано [14].

Наши исследования показали, что АК в условиях солевого стресса индуцировала генерацию H_2O_2 , понижала уровень ПОЛ и стимулировала активность антиоксидантных ферментов картофеля. Эффекты влияния АК зависели от исследуемого органа растения. Так, в надземной части растений уровень генерации H_2O_2 и индукции активности АОФ были выше по сравнению с незначительными изменениями в корнях. Экзогенная АК при совместном действии с засолением снижала уровень ПОЛ, что, очевидно, способствовало повышению солеустойчивости растений картофеля. Наши результаты согласуются с литературными данными, полученными на растениях фасоли, где также добавление АК снижало уровень ПОЛ при солевом стрессе [23].

Наибольшее влияние АК оказала на СОД и АПО в побегах, увеличив их активность в 2 раза при солевом стрессе. КАТ активировалась в 1,5-1,8 раз [24]. Активность растворимых и связанных форм ПО увеличивалась в 1,5-2 раз при совместном влиянии АК и засолении. Эти данные подтверждают предположение о том, что АОФ принимают активное участие в нейтрализации АФК, снимают негативное влияние окислительного стресса и принимают активное участие в адаптации растений к стрессовым условиям [25].

ВЫВОДЫ

Обработка АК в условиях солевого стресса оказывала на растения картофеля адаптогенное воздействие, в результате которого произошла активация антиоксидантной системы (на 80-100% больше контроля). Это в свою очередь способствовало нейтрализации стресс-индуцированного возрастания уровня АФК и, соответственно, приводило к снижению окислительного стресса. Таким образом, экзогенная АК способна индуцировать защитный ответ про- и антиоксидантной систем при формировании устойчивости растений картофеля к засолению.

Финансирование

Настоящее исследование проведено в рамках проекта 1477/ГФЗ «Получение устойчивых к засухе и засолению линий картофеля методами клеточной селекции и изучение роли антиоксидантной системы в биохимических механизмах формирования устойчивости» 2013-2015 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давлятназарова З.Б., Киёмова З.С., Норкулов Н.Х., Ашуров С.Х., Алиев К.А. Влияние засоления и засухи на про- и антиоксиданты хлоропластов растений картофеля // Доклады академии наук Республики Таджикистан. – 2013. – Т. 56, №9. – С. 745-750.
2. Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н. АФК-индуцированные процессы в клетках *xTriticosecale* в условиях натрий-хлоридного засоления // Известия ТГУ. Серия «Естественные науки». – 2013. – Вып. 1. – С. 241-250.
3. Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B. et al. ROS signaling: the new wave // Trends in Plant Science. – 2011. – Vol. 16. – P. 63-68.
4. Радюкина Н.Л. Функционирование антиоксидантной системы дикорастущих видов растений при кратковременном действии стрессоров: дис. ... докт.биол. наук. – М., 2015. – 207 с.
5. Утарбаева А.Ш., Чебоненко О.В., Турсунова А.К. и др. Про- и антиоксидантный статус культивируемых *in vitro* клеток картофеля при селекции на соле- и засухоустойчивость // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2014. – №5(305). – С. 89-93.
6. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб, 2012. – С. 429.
7. Обозный А.И. Активность аскорбатпероксидазы и содержание АК в проростках пшеницы при закаливании и повреждающих тепловых и осмотических воздействиях // Харьковский НАУ. – 2012. – №3(27). – С. 65-74.
8. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №2 (84), Ч. 2. – С. 178-180.
9. Trchounian A., Petrosyan M., Sahakyan N. Plant cell redox homeostasis and reactive oxygen species // Redox state as a central regulator of plant-cell stress responses. – 2016. – P. 25-50.
10. Шарова Е.И. Антиоксиданты растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2016. – 140 с.
11. Чупахина Г.Н. Система аскорбиновой кислоты растений: монография. – Калининград, 1997. – С. 119.
12. Масленников П.В., Чупахина Г.Н., Скрышник Л.Н., Мальцева Е.Ю., Полтавская Р.Л. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в лекарственных растениях Калининградской области // Химия растительного сырья. – 2012. – №3. – С. 127-133.
13. Вержук В.Г., Павлов А.В., Мурашев С.В. и др. Регулирующая роль криопротекторов и антиоксидантов при хранении геноплазмы плодовых и ягодных культур // Межд. научно-иссл. ж. – 2016. – №11(53), Ч. 2. – С. 115-118.

14. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Физиологические функции неэнзиматических антиоксидантов растений // Вісник Харківського НАУ. Серія біологія. – 2015. – Вип. 2(35). – С. 6-25.
15. Venkatesh J., Park S.W. Role of L-ascorbate in alleviating abiotic stresses in crop plants // Botanical Studies. – 2014. – Vol. 55. – P. 38.
16. Gay C., Collins J., Gebicki J.M. Hydroperoxide assay with the ferric – xylenol orange complex // Analytical Biochemistry. – 1999. – Vol. 273. – P. 149-155.
17. Жиров В.К., Мерзляк М.Н., Кузнецов Л.В. Перекисное окисление мембранных липидов холодостойких растений при повреждении отрицательными температурами // Физиология растений. – 1982. – Т. 29. – С. 1045-1052.
18. Aebi H. Catalase in vitro // Methods Enzymology. – 1984. – Vol. 105. – P. 121-126.
19. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbic-specific peroxidase in spinach chloroplasts // Plant Cell Physiol. – 1981. – Vol. 22. – P. 867-880.
20. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 44. – P. 276-287.
21. Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизида H_2O_2 в присутствии пероксидазы хрена // Биохимия. – 1977. – Т. 42. – С. 1372-1379.
22. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М., 1971. – С. 309-310.
23. Doltabadian A., Jouneghani R.S. Impact of exogenous ascorbic acid on antioxidant activity and some physiological traits of common bean subjected to salinity stress // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. – 2009. – Vol. 37(2). – P. 165-172.
24. Sajid Z.A., Aftab F. Foliar spray of ascorbic acid improves salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. // Acta Hort. (ISHS). – 2016. – Vol. 1145. – P. 69-74.
25. Upadhyaya C.P., Bagri D.S., Upadhyay D.C. Ascorbic acid and/or 24-epibrassinolide trigger physiological and biochemical responses for the salt stress mitigation in potato (*Solanum Tuberosum* L.) // Int. J. Appl. Sci. Biotechnol. – 2015. – Vol. 3(4). – P. 655-667.

REFERENCES

1. Davlyatnazarova Z.B., Kiyomova Z.S., Norkulov N.Kh., Ashurov S.Kh., Aliev K.A. Influence of salinity and drought on pro and antioxidants of chloroplasts of potato plants. *Reports of the Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan*, 2013, vol. 56, no. 9, pp. 745-750.
2. Garifzyanov A.R., Zhukov N.N. AFK-induced processes in *xTriticosecale* cells under conditions of sodium-chloride salinity. *Izvestiya TSU. Natural Sciences*, 2013, Issue. 1, pp. 241-250.
3. Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B. et al. ROS signaling: the new wave. *Trends in Plant Science*, 2011, vol. 16, pp. 63-68.
4. Radyukina N.L. *Functioning of the antioxidant system of wild plant species under short-term action of stressors*. Diss. doct. sci. Moscow, 2015, 207p.
5. Utarbaeva A.Sh., Chebonenko O.V., Tursunova A.K. et al. Pro- and antioxidant status of cultivated in vitro potato cells during selection for salt and drought resistance. *Izvestiya NAS RK, biological and medical series*, 2014, no. 5 (305), pp. 89-93.
6. Medvedev S.S. *Plant physiology*. S.-Petersburg, 2012, pp. 429.
7. Obozny A.I. The activity of ascorbate peroxidase and the content of AA in wheat sprouts during hardening and damaging thermal and osmotic effects. *Kharkov NAU*, 2012, no. 3(27), pp. 65-74.
8. Tolpygina O.A. The role of glutathione in the antioxidant defense system (Review). *Bulletin of the All-Union Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2012, vol. 2(84), part 2, pp. 178-180.
9. Trchounian A., Petrosyan M., Sahakyan N. Plant cell redox homeostasis and reactive oxygen species. *Redox state as a central regulator of plant-cell stress responses*, 2016, pp. 25-50. doi: 10.1007/978-3-319-44081-1_2.
10. Sharova E.I. *Antioxidants of plants*. S.-Petersburg. University, 2016, 140 p.
11. Chupakhin G.N. *System of ascorbic acid plants*. Monograph. Kaliningrad, 1997, 119 p.
12. Maslennikov P.V., Chupakhina G.N., Skrypnik L.N., Maltseva E.Yu., Poltavskaya R.L. The content of low-molecular antioxidants in medicinal plants of the Kaliningrad region. *Chemistry of plant raw materials*, 2012, no. 3, pp. 127-133.
13. Verzhuk V.G., Pavlov A.V., Murashev S.V. et al. The regulating role of cryoprotectants and antioxidants in the storage of genomeplasm of fruit and berry crops. *Int. Scientific research. F.*, 2016, no. 11 (53), part 2, pp. 115-118.
14. Kolupaev Yu.E., Yastreba T.O. Physiological functions of non-enzymatic plant antioxidants. *News of Kharkiv NAU, seriyabiologiya*, 2015, issue 2(35), pp. 6-25.
15. Venkatesh J., Park S.W. Role of L-ascorbate in alleviating abiotic stresses in crop plants. *Botanical Studies*, 2014, vol. 55, pp. 38. doi: 10.1186/1999-3110-55-38.

16. Gay C., Collins J., Gebicki J.M. Hydroperoxide assay with the ferric – xylenol orange complex. *Analytical Biochemistry*, 1999, vol. 273, pp. 149-155.
17. Zhiron V.K., Merzlyak M.N., Kuznetsov L.V. Peroxide oxidation of membrane lipids of cold-resistant plants with damage by negative temperatures. *Physiology of plants*, 1982, vol. 29, pp. 1045-1052.
18. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 1984, vol. 105, pp. 121-126.
19. Nakano Y., Asada K. Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbic-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 1981, vol. 22, pp. 867-880.
20. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal.Biochem.*, 1971, vol. 44, pp. 276-287.
21. Lebedeva O.V., Ugarova N.N., Berezin I.V. Kinetic study of the oxidation reaction of o-dianisidine H₂O₂ in the presence of horseradish peroxidase. *Biochemistry*, 1977, vol. 42, pp. 1372-1379.
22. Kochetov G.A. Practical guidance on enzymology. Moscow, 1971, pp. 309-310.
23. Doltabadian A., Jouneghani R.S. Impact of exogenous ascorbic acid on antioxidant activity and some physiological traits of common bean subjected to salinity stress. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 2009, vol. 37(2), pp. 165-172.
24. Sajid Z.A., Aftab F. Foliar spray of ascorbic acid improves salinity tolerance in Solanum tuberosum L. *Acta Hort. (ISHS)*, 2016, vol. 1145, pp. 69-74.
25. Upadhyaya C.P., Bagri D.S., Upadhyay D.C. Ascorbic acid and/or 24-epibrassinolide trigger physiological and biochemical responses for the salt stress mitigation in potato (Solanum Tuberosum L.). *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.* 2015, vol. 3(4), pp. 655-667. doi: 10.3126/ijasbt.v3i4.13975.

АСКОРБИН ҚЫШҚЫЛЫНЫҢ КАРТОПТАҒЫ ТҰЗДЫ СТРЕСС КЕЗІНДЕ ПРО- ЖӘНЕ АНТИОКСИДАНТТАР ЖҮЙЕЛЕРІНЕ ӘСЕРІ

Чебоненко О.В., Әмірқұлова А.Ж., Тұрсынова А.Қ., Сапко О.А., Абайлдаев А.О., Отарбаева А.Ш.

*М.Ә. Айтхожин атындағы молекулярлық биология және биохимия институты
Досмұхамедов к-сі, 86, Алматы, Қазақстан
olessjachebonenko@mail.ru*

ТҮЙІН

Аскорбин қышқылы (АҚ) – оттегінің белсенді формаларының (ОБФ), майлардың асқын тотығының (МАТ) деңгейін реттеуде маңызды рөлдерді атқаратын, өсімдіктердің жасушаларындағы физиологиялық процестерге әсер ететін төменгі молекулалы антиоксидант. Аскорбин қышқылының (АҚ) қызметі – тотықсыздандырғыш стресстің әсерін азайтып, көптеген бос радикалдарды қалпына келтіру болып табылады. Құрғақшылық пен тұзға төзімді өсімдіктерде АҚ деңгейі жоғарылығымен ерекшеленіп, олар стресс кезінде ОБФ реттеуге белсенді қатысатындығы көрсетілген.

Біз экзогенді АҚ 10 мМ концентрациясында маңызды антиоксидантты ферменттерге (АОФ): супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), аскорбатпероксидаза (АПО), пероксидаза (ПО), прооксиданттар деңгейі (H₂O₂, МАТ) картоп өсімдігінің «Ақсор» және «Орбита» сұрыптарында тұзды стресс кезінде зерттеу жұмыстары жүргізілді. Сұрыптарға байланысты про және антиоксиданттардың АҚ – на жауап деңгейінде айтарлықтай айырмашылықтар байқалмады. АҚ-ның жапырақтарда H₂O₂ генерациясына, тұзды стресс кезінде МАТ деңгейінің 2 есе төмендеуіне әкелетіндігі анықталды. АҚ ең үлкен ықпалды жапырақтардағы СОД және АПО көрсетіп, олардың белсенділігін 2 есе құрғақшылық кезінде арттырды. КАТ және ПО белсенділігі АҚ және тұзданумен қосымша әсер еткенде 1,5-2 есе арттырды. Осылайша, АҚ картоптың тұздануға төзімділігінің пайда болуында антиоксидантты жүйелердің жауап деңгейін реттейтіндігі көрсетілді. АОФ өсімдіктің стрессті жағдайларға бейімделуіне және ОБФ-ның бейтараптандыруға белсенді қатысады.

Негізгі сөздер: картоп, тұзды стресс, аскорбин қышқылы (АҚ), антиоксидантты ферменттер (АОФ), сутегінің асқын тотығы (H₂O₂), майлардың асқын тотығы (МАТ).