

## РОЛЬ САПОНИНОВ В ЗАЩИТЕ ТИЛАКОИДНОЙ МЕМБРАНЫ ОТ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА

С. Б. ДАДАШЕВА, Р. А. ГАНИЕВА

<sup>1</sup>Институт ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана,  
г. Баку, Азербайджан, AZ1004, e-mail: sevil\_fotosintez@mail.ru

(Поступила в редакцию 29.09.2022)

*Исследованы состояния фотосинтетических пигментов хлорофилл а 663, хлорофилл а 680, хлорофилл b 645 и каротиноиды 445, 470, 500 в 7 дневных проростков пшеницы (Triticum aestivum L.), подвергнутых низкотемпературному стрессу, (4С) и протекторных свойств суммы сапонинов в данных условиях. Низкотемпературный стресс приводил к деструктивному изменению пигментов и их соотношению. Было показано что, низкотемпературный стресс изменяет количественное содержание как хлорофиллов, так и каротиноидов. Добавление в среду выращивания в условиях суммы сапонинов низкотемпературного стресса приводило к восстановлению соотношения формы хлорофилла и каротиноидов к норме. Возможно восстановление содержание пигментов связано со способностью сумма сапонинов нормализовать билипидный слой тилакоидных мембран разрушаемый низкотемпературным стрессом. Кроме того, наличие каротиноидов являющихся неферментативным антиоксидантом играет большую роль в защите тилакоидных мембран от повреждений.*

**Ключевые слова:** пшеница, низкотемпературный стресс, спектры поглощения, фотосинтетические пигменты, реактивные формы кислорода, сапонины.

*The states of photosynthetic pigments chlorophyll a 663, chlorophyll a 680, chlorophyll b 645, and carotenoids 445, 470, 500 in 7-day-old seedlings of wheat (Triticum aestivum L.) subjected to low-temperature stress (4 °C) and the protective properties of total saponins under these conditions were studied. Low-temperature stress led to a destructive change in pigments and their ratio. It has been shown that low-temperature stress changes the quantitative content of both chlorophylls and carotenoids. The addition of low-temperature stress to the growing medium under conditions of total saponins led to the restoration of the ratio of the form of chlorophyll and carotenoids to the norm. Perhaps the restoration of the content of pigments is associated with the ability of the sum of saponins to normalize the bilipid layer of thylakoid membranes, which is destroyed by low-temperature stress. In addition, the presence of carotenoids, which are non-enzymatic antioxidants, plays an important role in protecting thylakoid membranes from damage.*

**Key words:** wheat, low-temperature stress, absorption spectra, photosynthetic pigments, reactive oxygen species, saponins.

### Введение

Фотосинтез является мультилинейным процессом последовательных редоксреакций, происходящих, когда светособирающие хлорофилл-белковые комплексы (ХБК) тилакоидной мембраны, поглощая энергию фотонов передают ее в фотосинтетические реакционные центры (РЦ) [4]. Одной из причин, вызывающих нарушение фотосинтетической деятельности при стрессах, является повреждение мембранной системы хлоропластов. В условиях низкотемпературного стресса в растительном организме происходит ряд взаимосвязанных реакций, таких как накопление реактивных молекул кислорода и снижение фотосинтетической активности фотосистем [5]. Растения озимой ржи за счет реорганизации тилакоидной системы, а также благодаря отсутствию синтеза крахмала в хлоропластах, многократно увеличивали содержание растворимых сахаров в клетках, что обеспечивало высокую эффективность низкотемпературного закаливания этих растений [3]. Кроме того, при низких температурах нарушается активность ферментов участвующих в фотосинтезе, а также текучесть мембраны, что приводит к подавлению способности ХБК нормально функционировать [12]. Модификация транскрипции генов трансляции и транспорта белков для восстановления повреждений, вызванных низкими температурами, и индукции акклиматизации к ним приводит к изменениям размера, количества хлоропластов и содержания в них хлорофилла (Хл) [8]. Накопление каротиноидов (Кар) часто рассматривается как один из механизмов противодействия стрессу в организме [10]. В качестве гасителей триплетных состояний каротиноиды способны защищать фотосинтетический аппарат, подавляя образование высоко реактивных триплетных состояний Хл, как только они образуются. Отмечается усиление синтеза Кар свободными радикалами [11]. Известно, что Кар является мощным гасителем АФК, особенно форм синглетного кислорода [Middleton & Teramura, 1993]. Эффективность Кар в защите фотосистем вероятно связано с их функцией эффективного гасителя высокоэнергетического дробового излучения [Demmig-Adams, 1990]. Механизм, с помощью которого это достигается, впервые был предложен для включения фотохимического изменения состояния синглетного кислорода в триплетную форму при взаимодействии с удалением потенциально опасных кислородных радикалов, образующихся в фотоокислительных процессах [Krinsky, 1979].

Главным составляющим пигментной системы являются каротиноиды, которые выполняют ряд важнейших функций в процессе фотосинтеза, таких как защитную, а также фотопротекторную, т. е. в

условиях стресса предохраняют реакционные центры фотосистем (РЦ ФС) от потока энергии и липидную фазу тилакоидной мембраны от перекисления [2, 6, 9]. Абиотический стресс приводит к повышению активности системы антиоксидантной защиты, которая в свою очередь тушит реактивные молекулы кислорода, облегчая окислительное повреждение в растительной клетке [7]. Использование растений в традиционной медицине широко распространено, и растения по-прежнему являются крупным источником природных антиоксидантов [Miliaskas *et al.*, 2004]. Растения развили защитные ферментативные и неферментативные механизмы для удаления АФК. Такие молекулы, как глутатион, аскорбат и каротиноиды, сапонин-глицерризин обеспечивают неферментативную защиту [Scandalios, 1997; Smolikova *et al.*, 2015]. В данной работе исследовали суммарную роль сапонинов в защите пигментной системы тилакоидной мембраны в условиях низкотемпературного стресса в качестве главной составляющей пигментной системы, которой являются Кар.

Объектом исследования служили 7-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.), выращенные в факторостатных условиях, в водной среде (250Вт/м<sup>2</sup>, 22 °С, влажность 80 %). Проростки растения подвергались низкотемпературному стрессу (4 °С) в течение 24 часов. Сумма сапонинов извлекалась из корней солодки (*Radix glycyrrhizae*) (1). В условиях низкотемпературного стресса на 24 часа в среду выращивания вносилась также сумма сапонинов в концентрации (5мкг/мл). Исследования проводились *in vivo*. Спектр поглощения пигментов определяли на спектрофотометре фирмы Fuye Cary 50 Scan Varian. Содержание хлорофилла определяли по величине поглощения на длинах волн: для Хл *a* – 663нм, 680нм и Хл *b* – 645нм; каротиноидов – 445, 470 и 500 нм. Статистическую обработку данных проводили по программе Excell.

### Основная часть

Анализ спектров поглощения показал, что действие низкотемпературного стресса приводит к количественному уменьшению форм хлорофилла (Хл) поглощающих в области Хл *a*<sub>663</sub>, Хл *a*<sub>680</sub> и Хл *b*<sub>645</sub>. Наблюдалось уменьшение Хл *a*<sub>680</sub> на 44 %, Хл *a*<sub>663</sub> на 35 % и Хл *b*<sub>645</sub> на 27 % относительно контроля. В проростках, инкубированных в растворе, содержащих сапонины и переносящих низкотемпературный стресс, наблюдался положительный эффект в содержании исследуемых пигментов. В обработанных сапонином проростках определялось увеличение пигментов: Хл *a*<sub>680</sub> на 64 %, Хл *a*<sub>663</sub> на 63 %, Хл *b*<sub>645</sub> –50 % (рис. 1).

Температурный стресс подавлял поглощающую способность каротиноидов. Наблюдалась наименьшая реакция Кар на низкую температуру относительно к Хл. Как видно из рис. 1 и 2, спектры поглощения ингибирование фотосинтетических пигментов можно коррегировать добавлением в среду протектора.

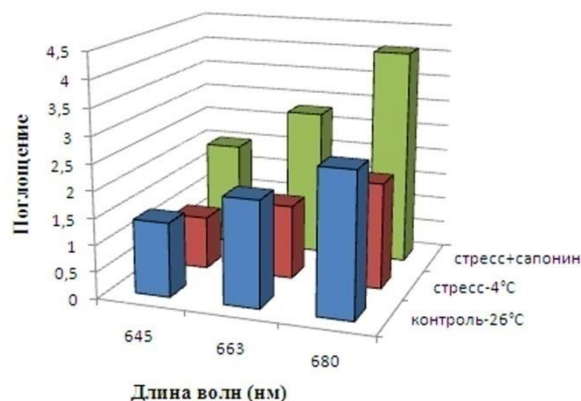


Рис. 1. Действие низкотемпературного стресса (4 °С) в течение 24 часов на состояние фотосинтетических пигментов Хл *a*<sub>663</sub>, Хл *a*<sub>680</sub>, Хл *b*<sub>645</sub> в листьях 7-дневных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и защита их суммой сапонинов, выделенных из корней солодки (*Radix glycyrrhizae*).

Как видно из таблицы, стрессовый фактор приводят к понижению величины отношения Хл *a*<sub>663</sub>/Хл *b*<sub>645</sub>. Хл *a*<sub>680</sub>/Хл *b*<sub>645</sub>. Это указывает на большую устойчивость Хл *b*<sub>645</sub> к данному стрессу. При добавлении протектора в среду выращивания проростков в условиях низких температур наблюдается тенденция к увеличению отношения Хл *a*<sub>680</sub>/Хл *b*<sub>645</sub>, что предполагает больший защитный эффект сапонины по отношению к Хл *a*<sub>680</sub>.

**Изменение величины отношения Хл  $a_{663}/Хл b_{645}$ , Хл  $a_{680}/Хл b_{645}$  в листьях проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.), обработанных и необработанных сапонинами, в условиях низкотемпературного стресса**

Длина волн, нм	Контроль	Стресс	Защита
Хл $a_{663}/Хл b_{645}$	1,3	1,2	1,4
Хл $a_{680}/Хл b_{645}$	1,8	1,4	2,1

Действие сапонинов восстанавливает поглощающая способность каротиноидов Кар 445 нм на 46 %, Кар 470 нм – 44 % и Кар 500 нм – 41 % относительно стресса (рис. 2). Защита пигментов суммой сапонинов (рис. 1 и 2) объясняется присутствием в фитохимическом составе флаваноидов с преобладанием ликуразида [19]. Восстановление исследуемых фотосинтетических пигментов возможно связано также со способностью каротиноидов, как неферментативных антиоксидантов, тушить свободные радикалы, образующиеся при низкотемпературном стрессе.

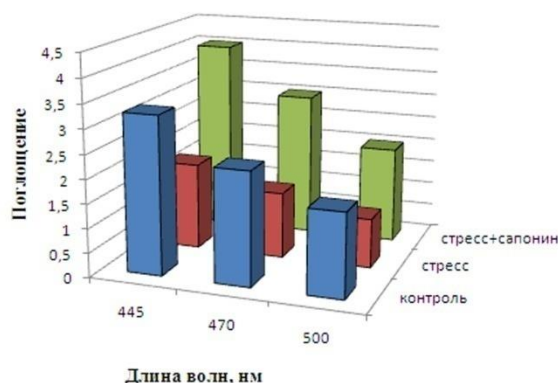


Рис. 2. Действие низкотемпературного стресса при ( $4^{\circ}\text{C}$ ) в течение 24 часов на состояние каротиноидов: Кар – 445, 470 и 500 нм в листьях 7-дневных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и защита их суммой сапонинов, выделенных из корней солодки (*Ra dix glycyrrhizae*)

Каротиноиды защищают фотосинтетический аппарат двумя способами:  $\beta$ -каротин ( $\beta$ -Кар) непосредственно гасит как триплетный хлорофилл  $^3Хл^*$ , так и синглетный кислород  $^1O_2^*$ . Накопление каротиноидов часто рассматривается как один из механизмов противодействия стрессу в организме (М 2000). В качестве гасителей триплетного состояния каротиноиды способны защищать фотосинтетический аппарат, подавляя высоко реактивное триплетное состояние хлорофилла. В условиях низкотемпературного стресса тилакоидная мембрана является основной мишенью для свободных радикалов, которые приводят к нарушению ее барьерной функции. В результате наблюдаются деструктивные количественные изменения в фотосинтетических пигментах. Наблюдаемое восстановление пигментных характеристик в присутствии суммы сапонинов в условиях холода, предполагается благодаря наличию в их фитохимическом составе свободных агликонов, которое может определять характер ее биологической активности.

### Закключение

1. Показано, что низкотемпературный стресс приводит к повреждению тилакоидной мембраны и деструктивным изменениям пигментного аппарата.

2. Выявлена роль сапонинов, обладающих мембранно активными свойствами в защите тилакоидной мембраны от повреждений реактивных форм кислорода в условиях низкотемпературного стресса.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Способ получения суммы сапонинов из корней аралии маньчжурской / В. А. Куркин [и др.] // Описание изобретения к патенту. – Режим доступа: <https://www.freepatent.ru/patents/2591081> – Дата доступа: 06.05.2022.
2. Каляга, Т. Г. Влияние почвенной засухи на содержание фотосинтетических пигментов в растениях ячменя сорта бровар. Журнал Белорусского государственного университета / Т. Г. Каляга, Н. В. Козел // Биология. – 2020. – Том. 3. – С. 46–53.
3. Попов, В. Н. Изменение ультраструктуры хлоропластов *Cucumis sativus* L. и *Secale Cereale* L. При низкотемпературном закаливании / В. Н. Попов, Н. В. Астахова // Физиология растений. – 2021. – Том 68. – С. 402–411.
4. Baker, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. Annual Review of Plant Biology, 2008, vol. 59, pp. 89–113.
5. Bychkov, I. A., Kudryakova N. V., Kuznetsov VI. V., Kusnetsov V. Cold Stress Activates the Expression of Genes of the Chloroplast Transcription Apparatus in Arabidopsis thaliana Plants. Environmental Science, Doklady. Biochemistry and biophysics, 2020, vol. 494, pp. 235–239.
6. 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, pp.107–113.
7. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. J. of Cell Biology, 2011, vol. 194, pp. 7–15.

8. Kurepin, L. V., Dahal K. P., Savitch L. V., Singh J., Bode R., Ivanov A.G., Hurry V., Hüner N. P.A. Role of CBFs as Integrators of Chloroplast Redox, Phytochrome and Plant Hormone Signaling during Cold Acclimation. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, vol. 14, pp. 12729–12763.
9. Ladygin, V. G. Spectral features and structure of chloroplasts under an early block of chlorophyll synthesis. *Biophysics*, 2006, vol. 51, pp. 635–644.
10. Mallick, N., Mohn, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. *J. Plant Physiol.*, 2000, vol. 157, pp. 183–193.
11. Schroeder, W. A. & Johnson, E. A. Singlet oxygen and peroxy radicals regulate carotenoid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma*. *J. Biol Chem.*, 1995b, vol. 270, pp. 18374–18379.
12. Yang Y.-J., Chang W., Huang W., Zhang Sh.-B., Hu H. The effect of chilling-light stress on photosystems I and II in three paphiopedilum species. *Botanical Studies*, 2017, vol. 58, pp. 53.
13. Middleton, E. M. & Teramura, A. H. (1993). The Role of Flavonol Glycosides and Carotenoids in Protecting Soybean from Ultraviolet-B Damage. *Plant Physiol.*, 103, pp. 741–752.
14. Demmig-Adams, B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1020, 1–24.
15. Krinsky, N. I. (1979). Carotenoid protection against oxidation. *Pure and Applied Chemistry*, 51, pp. 649–660.
16. Miliaskas, G., Venskutonis, P. R., Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85, pp. 231–237.
17. Scandalios, J. G. (1997). *Oxidative stress and molecular biology of antioxidants defenses*. Cold Spring Harbor Labor. Press. New-York.
18. Smolikova, G. H., Medvedev, C. C. (2015). Carotenoids: synthesis, diversity and functions. *Plant Physiology*, 62(4), 3–16.
19. Лекарственные растения Азербайджана / И. А. Дамиров [и др.]. – Баку: Из-во «Маариф», 1983. – 116 с.