

12. Karonen, M.; Loponen, J.; Ossipov, V.; Pihlaja, K. Analysis of procyanidins in pine bark with reversed-phase and normal-phase high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 2004, 522 (1), 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.06.041>

13. De Vos, R.C.; Moco, S.; Lommen, A.; Keurentjes, J.J.; Bino, R.J.; Hall, R.D. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Nat. Protoc.* 2007, 2 (4), 778–791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.95>

14. Fraser, K.; Harrison, S.J.; Lane, G.A.; Otter, D.E.; Hemar, Y.; Quek, S.Y.; Rasmussen, S. HPLC–MS/MS profiling of proanthocyanidins in teas: A comparative study. *J. Food Composition and Analysis.* 2012, 26(1-2), 43-51. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.01.004>

Влияние погодных условий сбора урожая сои на антиоксидантную систему её семян

**Иваченко Л. Е.^{А,Б*}, Лаврентьева С. И.^{А,Б}, Блинова А. А.^{А,Б},
Бондаренко О. Н.^Б**

^А Благовещенский государственный педагогический университет, кафедра химии, Благовещенск, Россия, *E-mail: ivachenko-rog@yandex.ru

^Б Всероссийский научно-исследовательский институт сои, лаборатория биотехнологии, Благовещенск, Россия.

Соя является востребованной белково-масличной культурой во всем мире. Основным регионом возделывания сои в России является Дальний Восток. Климат Амурской области резко-континентальный по температурным признакам с элементами муссонности по осадкам. Он характеризуется большим количеством солнечных дней, коротким безморозным периодом, значительными колебаниями по количеству осадков и температуре, что позволяет успешно возделывать теплолюбивую культуру сою. Главной задачей селекционеров является создание сортов сои с повышенной урожайностью и высокой приспособленностью к неблагоприятным условиям окружающей среды [1]. Установлено, что в зависимости от генотипа и условий окружающей среды в семенах сои значительно варьирует содержание и качество белка [2]. В. Т. Синеговской и соавторами выявлена тесная корреляционная взаимосвязь содержания белка в семенах сои с количеством выпавших осадков и гидротермальным коэффициентом в период образования бобов – налива семян [3]. Неблагоприятные условия выращивания индуцируют высокие концентрации активных форм кислорода (АФК), которые могут повредить внутриклеточные макромолекулы. Примерно 1% потребляемого растениями O₂ направляется на образование АФК, которые представляют собой свободные радикалы, образующиеся во время метаболизма кислорода (гидроксильный радикал

(НО[·]), пероксид водорода (H₂O₂), супероксидный радикал (O₂^{·-}) и синглетный кислород (¹O₂) [4]. Воздействие экологических факторов нарушает баланс между образованием и утилизацией АФК в клетках, что приводит к их накоплению, увеличению интенсивности перекисного окисления (ПОЛ) мембран и является одной из основных причин повреждения и гибели растений. Маркером интенсивности окислительных процессов и показателем степени повреждающего действия стресс-фактора служит накопление одного из продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) [5].

Растения хорошо приспособлены для минимизации повреждений, которые могут быть вызваны АФК в естественных условиях роста и имеют сложные защитные механизмы для выживания в различных экологических условиях. Система окислительного ответа растений, которая включает неферментативные и ферментативные реакции, участвует в нейтрализации АФК, называется антиоксидантной. Неферментативные антиоксиданты, включают аскорбиновую кислоту, токоферол, глутатион, флавоноиды, алкалоиды и каротиноиды. К ферментам-антиоксидантам относятся супероксиддисмутаза (СОД, ЕС 1.15.1.1), каталаза (КАТ, ЕС 1.11.1.6), пероксидазы (ПОД, ЕС 1.11.1.x), полифенолоксидаза (ПФО, ЕС 1.10.3.1) и другие ферменты [6]. Антиоксидантная система, может служить показателем устойчивости растений к разнообразным стрессовым факторам [7].

Цель работы – сравнить влияния погодных условий сбора урожая сои на функционирование антиоксидантной системы её семян.

Для более точной оценки антиоксидантной активности сои мы проанализировали в течение трех лет (2019-2021 гг.) семена девяти сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ Всероссийского научно-исследовательского института сои (Кружевница, Сентябринка, Веретейка, Лидия, Умка, Даурия, Золушка, Лазурная, Топаз). В лабораторных исследованиях удельную активность пероксидазы семян сортов сои определяли фотоколориметрическим методом, удельную активность супероксиддисмутазы, каталазы, полифенолоксидазы, содержание МДА, аскорбиновой кислоты и каротина – спектрофотометрическим методом. Для биохимического анализа из исследуемого материала (500 мг) готовили экстракты белков, в которых определяли количество белка по методу Лоури. Удельную активность ферментов выражали в единицах активности на 1 мг белка [8]. Исследования выполняли в двух биологических и трех аналитических повторностях. Обработка результатов исследования выполнена с использованием статистической программы STATISTICA 10, графическое представление данных – с помощью программного обеспечения Excel (2010).

Биохимические показатели семян сои зависят от условий окружающей среды. Метеорологические условия по годам были в целом относительно удовлетворительными для возделывания сои. Сумма активных температур была достаточной для вызревания сортов сои. Однако к избыточному увлажнению почвы, в отдельные периоды и неравномерному температурному фону сорта проявляли различную степень резистентности. Наиболее используемым показателем метеорологических исследований является гидротермический коэффициент увлажнения (ГТК) Г.Т. Селянинова, представляющий собой отношение суммы осадков за период не менее месяца к сумме температур выше 10 °С за этот же период, уменьшенной в 10 раз [9]. В исследуемые годы вегетационные периоды в целом имели незначительные отличия и по ГТК были отнесены к переувлажненным, но в период созревания семян и сбора урожая в сентябре по температуре и количеству осадков были значительные различия, что повлияло на биохимические процессы в семенах сои, собранных в разные годы исследования. В 2019 г. в сентябре ГТК соответствовал 1,3, что соответствует норме. В 2020 г. в сентябре выпало на 40% осадков больше нормы, и ГТК составил 2,9, поэтому этот период отнесен к переувлажненному. В 2021 году сентябрь отличился повышенной температурой и минимальным количеством осадков, что позволило охарактеризовать ГТК как засушливый (0,9).

Анализ средних исследуемых показателей в семенах сои за три года, позволил выявить, что в 2019 году, когда в сентябре были установлены оптимальные условия возделывания сои, антиоксидантная система работала на минимуме. В этом году в полученных семенах выявлено невысокое содержание низкомолекулярных антиоксидантов аскорбиновой кислоты и каротина (9,56 мг % и 0,11 мг на 100 г соответственно). Удельная активность антиоксидантных ферментов СОД, КАТ и ПОД также была низкой и составила 50, 04, 11,3 и 48, 83 ед/мг белка соответственно. Такие низкие показатели антиоксидантной системы в стандартных для сои условиях возделывания, вероятно, отразилось на содержании МДА в семенах сои, которое составило максимальное значение 0,29 мкмоль/г сырой массы (таблица). Следует отметить в этих условиях только самую высокую активность ПФО (8,72 ед/мг белка), что выше в 8 раз по сравнению с 2020 г. и в 15 раз по сравнению с 2021 г. Высокая удельная активность ПФО способствует утилизации избытка пероксида водорода. Фермент катализирует реакции, в которых акцептором водорода выступает молекулярный кислород воздуха, а фенолы действуют как неферментативные антиоксиданты доноров водорода, поэтому ПФО участвует в дыхании рас-

тительных клеток путем обратимого окисления полифенолов. Установлено, что в стрессовых условиях в клетке активность ферментов фенолоксидаз возрастает, препятствуя распространению АФК [10].

Наименьшее содержание МДА (0,08 мкмоль/г сырой массы) наблюдалось в 2020 году, где за весь вегетационный период, за исключением июля, было отмечено переувлажнение. В этих условиях выявлено максимальное содержание каротина (0,23 мг на 100 г) и важнейших ферментов антиоксидантного комплекса СОД и ПОД (154,7 и 107,4 ед/мг белка соответственно). Минимальное содержание МДА можно объяснить тем, что именно высокая удельная активность СОД обеспечивает важную роль в защите клеток растений от АФК. Этот фермент обнаружен практически во всех компартментах клетки, где осуществляет дисмутацию реакционно активного супероксидного анион-радикала до более стабильного пероксида водорода. Этот фермент принадлежит к наиболее интенсивно изучаемым белкам, так как он является ключевым ферментом, непосредственно обеспечивающим обрыв цепей кислород зависящих свободно радикальных реакций в клетках аэробных организмов. Также минимальное содержание МДА в условиях этого года можно объяснить благодаря наличию в структуре каротина сопряженных двойных связей, которые могут легко связывать синглетный кислород и ингибируют образование свободных радикалов, предупреждая их негативное действие на растительный организм.

Таблица

Средние показатели содержания МДА, каротина, аскорбиновой кислоты и антиоксидантных ферментов семян сои, выращенных в 2019-2021 гг.

Год	Средние показатели ПОЛ	Среднее содержание низкомолекулярных антиоксидантов		Средняя удельная активность антиоксидантных ферментов, ед/мг белка			
	МДА, мкмоль/г	Каротин, мг на 100 г	Аскорбиновая кислота, мг%	СОД	КАТ	ПОД	ПФО
2019	0,29	0,11	9,56	50,04	11,30	48,83	8,72
2020	0,08	0,23	10,20	154,70	129,34	107,74	0,58
2021	0,12	0,08	18,65	79,16	149,64	52,79	1,22

Следует заметить, что в 2021 году, когда в сентябре наблюдалась засуха, содержание МДА в семенах сои было невысоким и составило всего 0,12 мкмоль/г сырой массы. Максимальная удельная активность выявлена в этих условиях для каталазы (149,64 ед/мг белка) и установлено высокое содержание аскорбиновой кислоты (18,65 мг %), что составило в два раза выше, чем в условиях 2019 года. В утилизации образующегося в клетках растений пероксида водорода активно участвует КАТ. Важно, что КАТ

утилизирует пероксид водорода энергосберегающим образом, что способствует сохранению восстановленных эквивалентов и энергии в клетках.

В формировании защитно-приспособительной реакции растения на действия стресса вовлечены многие физиологические и биохимические процессы, в первую очередь активизируются компоненты антиоксидантной защиты.

Таким образом, показано, что в период уборки урожая сои (IX месяц), оценка погоды по ГТК отличалась: 2019 г. – норма, в 2020 г. – переувлажненный, а 2021 г. – засушливый, что оказало влияние на биохимические процессы в семенах сои, в том числе на функционировании антиоксидантного комплекса. В 2019 году, в сентябре установлены оптимальные условия возделывания сои, также в этом году отсутствовал засушливый период, что вероятно связано с минимальной активностью антиоксидантного комплекса, а поэтому максимальном содержании МДА в семенах сои, и повышенной удельной активности ПФО. В условиях 2020 году, когда за весь вегетационный период отмечено переувлажнение, за исключением июля, в семенах сои установлена максимальная активность антиоксидантных ферментов и высокое содержание каротина, что привело к снижению окислительного стресса и наименьшему содержанию МДА в семенах сои. В условиях засухи в сентябре 2021 г. в семенах сои выявлено невысокое содержание МДА при высокой активности каталазы и повышенном содержании аскорбиновой кислоты.

Библиографические ссылки

1. Xavier A. Genome-Wide analysis of grain yield stability and environmental interactions in a multiparental soybean population / A. Xavier, A. D. Jarquin, R. Howard, V. Ramasubramanian [et al.] // *G3: Genes Genomes Genetics*. – 2018. – Vol. 8(2). – P. 519-529.
2. Guo B. Soybean genetic resources contributing to sustainable protein production / Guo B., Sun L., Jiang S. [et al.] // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2022. – V. 135. – P. 4095-4121.
3. Синеговская, В. Т. Влияние обеспеченности растений минеральным питанием на содержание белка в семенах сои / В. Т. Синеговская, Е. Т. Наумченко, И. В. Ануфриева // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. – 2020. – Т. 4. – С. 69-72.
4. Sewelam N. Global Plant Stress Signaling: Reactive Oxygen Species at the Cross-Road / N. Sewelam, K. Kazan, P.M. Schenk // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7. – Article 187.
5. Синькевич М. С. Процессы, препятствующие повышению интенсивности перекисного окисления липидов у холодостойких растений при гипотермии // М. С. Синькевич, Н. В. Нарайкина, Т. И. Трунова // *Физиология растений*. – 2011. – Т. 58. – № 6. – С. 875–882.
6. Debnath B. Acid rain deposition modulates photosynthesis, enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in tomato / B. Debnath, M. Irshad, S. Mitra et al. // *Int. J. Environ. Res*. – 2018. – Vol. 12. – P. 203-214.

7. Минибаева Ф. В. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе / Ф. В. Минибаева, Л. Х. Гордон // Физиология растений. – 2023. – Т. 50, № 3 – С. 459-464.

8. Иваченко Л. Е. Методы изучения полиморфизма ферментов сои / Л. Е. Иваченко, В. А. Кашина, Е. С. Маскальцова и др. Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2008. – 142 с.

9. Ионова Е. В. Засуха и гидротермический коэффициент увлажнения как один из критериев оценки степени ее интенсивности (обзор литературы). / Е. В. Ионова, В. А. Лиховидова, И. А. Лобунская // Зерновое хозяйство России. – 2019. – № 6. – С.18-22.

10. Половникова М. Г., Воскресенская О. Л. Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды // Физиология растений. 2008 Т. 55 № 5 С. 777–785.

Исследование антиоксидантной активности и потенциала экстрактов цианобактерий в отношении противоопухолевого и нейропротекторного действия

Казангаева М. А.^А, Орлова А. А.^Б, Мешалкина Д. А.^Б, Синетова М. А.^Б, Фролов А. А.^Б, Лось Д. А.^Б

^А Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

^Б Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Лаборатория аналитической биохимии и биотехнологии, Москва, Россия.

Цианобактерии представляют собой группу автотрофных микроорганизмов, способных синтезировать широкий спектр биологически активных соединений, включая антиоксиданты. Эти соединения могут обладать выраженной биологической активностью, в том числе, противоопухолевым и нейропротекторным действием, что делает их перспективными объектами для разработки новых лекарственных средств и биологически активных добавок с доказанной эффективностью для использования в медицинской практике. Исходя из этого, задачей данного исследования являлась оценка нейропротекторных, антиоксидантных и противоопухолевых свойств метанольных экстрактов, полученных из 16 штаммов цианобактерий, которые входят в коллекцию микроводорослей и цианобактерий ИРРАС ИФР РАН.

В исследовании использовались экстракты цианобактерий, полученные путем двукратной ультразвуковой экстракции метанолом при комнатной температуре. Антиоксидантная активность экстрактов оценивалась с помощью различных методов, таких как DPPH-метод, FRAP-метод и TEAC-метод. Соединения В-1200, В-1527, В-1600, В-1601, и В-1514 В-2022 В-1204, В-287 продемонстрировали наиболее высокую антиоксидантную активность.