

ПРОТЕКТОРНАЯ РОЛЬ ЭКСТРАКТОВ СЕМЯН КИНОА В ЗАЩИТЕ ТИЛАКОИДНОЙ МЕМБРАНЫ В УСЛОВИИ СОЛЕВОГО СТРЕССА

Х.Г. Гасымова, Р.А. Ганиева, В.М. Али-заде
Институт ботаники НАНА, Бадамдаское шоссе 40, Баку AZ1004, Азербайджан
E-mail: xatira1987@gmail.com

Исследованы антиоксидантные (АО) свойства экстрактов, полученных из семян разных сортов растения киноа (*Chenopodium quinoa*), в защите активности фотосистемы II (ФС II) в условиях окислительного стресса, вызываемого действием NaCl. Исследования проводили *in vivo* на листьях проростков пшеницы (*Triticum aestivum*), инкубированных в растворе NaCl флуоресцентным методом (мсек 3Ф Хл а). Наблюдаемые изменения индукционных переходов мсек 3Ф Хл а указывают на подавление NaCl активности работы электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) ФС II как на донорной, так и на акцепторной стороне. В этих условиях экстракты проявили корректирующий эффект в защите активности ФС II. Антиоксидантные свойства экстрактов обусловлены, возможно, наличием в их химическом составе большого количества фенольных соединений, витаминов группы В, С, D, Е, К, РР, холина – низкомолекулярных соединений, которые способны нейтрализовать свободные радикалы, выступающие в качестве реактивных молекул, вызывающих повреждение фотосинтетической мембраны.

Ключевые слова: киноа, экстракты, реактивные формы кислорода, NaCl, фотосистема II

ВЕДЕНИЕ

Растение *Chenopodium quinoa* Willd, широко известное как киноа, принадлежит к семейству *Amaranthaceae* [Cusack, 1984]. Киноа, в основном, произрастает в засушливых и полусушливых районах Андского региона Южной Америки, хотя его культивирование распространено по всему миру [Choukr-Allah et al., 2016, Bazile et al., 2016]. Вид хорошо приспособлен к экстремальным условиям, включая дефицит воды, низкие температуры, соленость и плохие почвы, и может расти в пределах высоты 4000 метров над уровнем моря [Adolf et al., 2013, Ruiz et al., 2014]. Сообщается, что в растительных материалах присутствуют многие фенольные соединения, в том числе антоцианы и флавоноиды, проявляющие высокую антиоксидантную активность. Антиоксидантные беталаины и антиоксидантные флавоноидные гликозиды, соответственно, были выделены из киноа [Zhu et al., 2001]. Считается, что фенольные соединения, присутствующие в растениях, ответственны за их антиоксидантную активность. Эти преимущества включают в себя высокое содержание бел-

ка: растение является одним из немногих пищевых продуктов растительного происхождения, содержащих девять незаменимых аминокислот [Mota et al., 2016]. Киноа также богато клетчаткой и витаминами группы В (особенно фолиевой кислотой), а также витаминами С и Е [Pereira et al., 2019]. Кроме того, растение содержит кальций, фосфор, железо, магний, калий, марганец и цинк (не содержит натрий) [Abugoch et al., 2008], а также обнаруживает высокие концентрации антиоксидантов (токоферолов) и ненасыщенных липидов, в основном, представленных линолевой и линоленовой кислотами [Pereira et al., 2019]. Кроме того, поскольку он не содержит глютен, он является подходящим продуктом для людей с целиакией [Abugoch, 2009]. Ряд ученых внесли важный вклад в исследование антиоксидантных свойств лекарственных растений, которые рассматриваются как потенциальный источник природных антиоксидантов [Ganiyeva et al., 2009, Pradedova et al., 2011]. Они усилены антиоксидантными ферментами и низкомолекулярными антиоксидантами, что обуславливает, в целом, устойчивость фото-

синтетического аппарата растения к стрессу [Halliwell, Gutteridge, 1999].

Любой тип стресса вызывает окислительные реакции, и токсические высокие концентрации солей при этом не является исключением. Как известно, солевой стресс имеет двойственный характер, включающий осмотический и ионный стресс. Исследования показывают, что при токсическом действии солей происходит разрушение тонкой структуры хлоропласта [Parageorgiou, Govindjee, 2004]. Функциональное состояние фотосинтетического аппарата является основным физиологическим показателем при изучении чувствительности растений к абиотическим факторам окружающей среды [Liu, Shi, 2010]. Падение фотосинтетической активности при действии отрицательных факторов связано с возникновением окислительного стресса, инициирующего генерацию реактивных форм кислорода (РФК) [Wang et al., 2009]. Предполагается, что причиной окислительного стресса является не интенсивное образование РФК, а нарушение баланса между генерацией и удалением, что вызывает активизацию системы антиоксидантной защиты [Foyer, Noctor, 2005]. Однако при избыточном накоплении РФК адаптивные и защитные механизмы клетки не справляются со своими функциями, что приводит к гибели растений [Jafarova et al., 2019]. В связи с вышеизложенным, целью данной работы стало определение протекторных свойств экстрактов полученных из 3-х сортов киноа (Q3, Q4, Q5) на активность ФС II, подавляемой действием солевого стресса (NaCl).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Экстракт из семян трех сортов киноа (Q3, Q4, Q5) был получен в процессе выдерживания в темноте 20 гр. измельченных семян киноа в течение 14 дней в 80% этаноле при ежедневном взбалтывании. Киноа с 2014 года выращивается на Кюрдамирской Опытной Станции (КОС) Института НАН Азербайджана [Gasimova et al., 2018, 2019]. Исследования проводили на листьях 7 дневных

проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.), выращенных в водной среде в факторостатных условиях. Затем 7 дневные проростки инкубировались в течении 24 ч. в солевой среде (NaCl-10⁻³M). Экстракт (Э) как протектор использовали в разбавленном водой состоянии в пропорции 2:3. Измерения проводили в 2-х вариантах после последовательного выдерживания растений определенное время (часы) в:

- 1) NaCl 24 ч → Э 5 ч.; NaCl 24 ч → Э 24 ч;
- 2) Э 24 ч → NaCl 5 ч.; Э 24 ч → NaCl 24 ч.

Функциональное состояние фотосинтетического аппарата оценивали методом замедленной флуоресценции хлорофилла а (Хл а) в миллисекундном временном диапазоне (мсек ЗФ), обусловленной рекомбинацией первичного разделения зарядов в реакционном центре (РЦ). Кинетику мсек ЗФ Хл а измеряли на флуориметре, включающем фосфороскоп с интервалом времени между моментом возбуждения и свечения 1,25 мс. [Goltsev et al., 2005].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Исследование активности ЭТЦ ФС II при действии на проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) экстрактом киноа показали увеличение величин отношения быстрой и медленной флуоресценции к стационарной флуоресценции (б.ф/с.ф и м.ф/с.ф), что свидетельствует о повышении активности ФС II относительно контроля (Рис. 1А, Б). Для определения антиоксидантных свойств экстрактов Q3, Q4, Q5 в листьях пшеницы создавали окислительный стресс действием NaCl с целью повышения в хлоропластах и клетке содержания РФК. В данных условиях наблюдалось падение активности как донорной (б.ф/с.ф), так и акцепторной сторон ЭТЦ ФС II, что демонстрируют индукционные переходы мсек ЗФ Хл а (Рис 1.А, Б).

При добавлении экстракта Q3 в среду выращивания пшеницы на 24 ч. и затем переноса проростков в среду засоленности через 5 ч. флуоресцентные характеристики показали подъем активности донорной и акцеп-

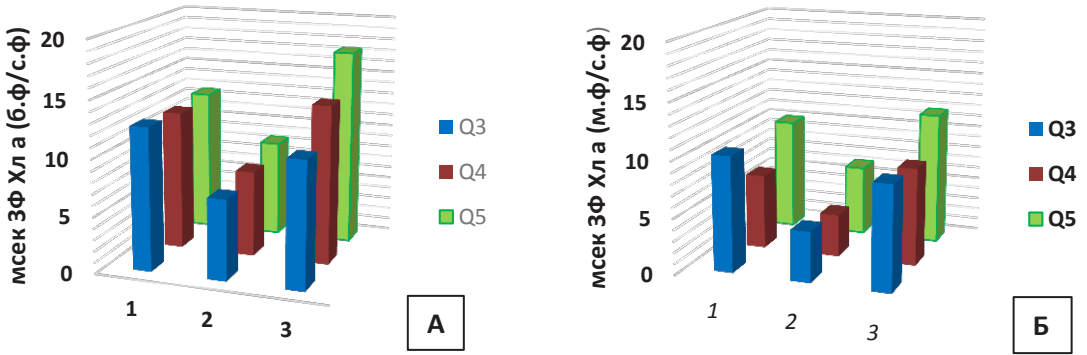


Рисунок 1. Изменения величин отношения быстрой и медленной флуоресценции к стационарной флуоресценции (А-б.ф./с.ф; Б-м.ф./с.ф), характеризующих работу ЭТЦ ФС II, при действии 1) контроль; 2) NaCl; 3) экстрактов кино Q3, Q4, Q5.

торной стороны ЭТЦ которая превышала контроль на 18-20%. Однако через 24 часа активность величины б.ф./с.ф и м.ф./с.ф соответственно уменьшалась (вариант 1). При переносе проростков из среды засоленности в среду, содержащую экстракт наблюдался подъем активности ФС II через 24 ч. (вариант 2) на 28% относительно контроля (Рис 2.). Активность экстракта Q4 в восстановлении работы ФС II превышала активность

и м.ф./с.ф наблюдалось во 2-ом варианте. Величины б.ф./с.ф и м.ф./с.ф повышались на 50% относительно контроля через 5 ч. после их воздействия. Однако через 24 часа величины б.ф./с.ф и м.ф./с.ф несколько снижались, оставаясь на уровне контроля (Рис 2.). Как демонстрируют флуоресцентные характеристики, действие экстрактов Q3, Q4, Q5 повышает активность работы ФС II в условиях стресса и наиболее сильным антиокси-

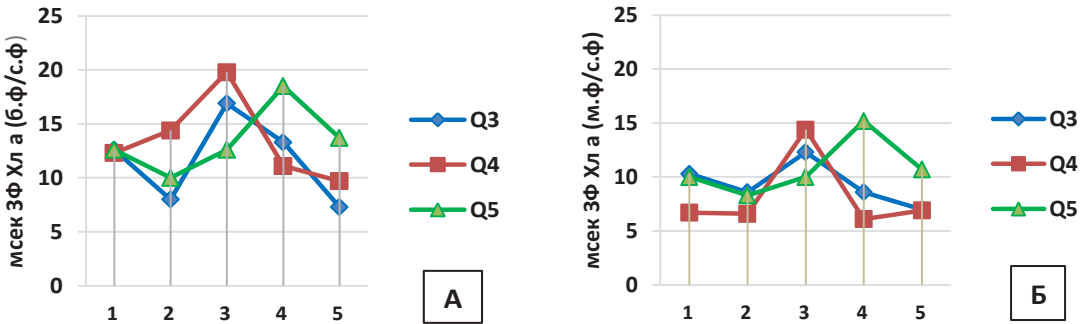


Рисунок 2. Изменения величин отношения быстрой и медленной флуоресценции к стационарной флуоресценции (А-б.ф./с.ф; Б-м.ф./с.ф), характеризующих работу электрон-транспортной цепи ФС II в зависимости от действия экстрактов кино Q3, Q4, Q5 в условиях засоленности NaCl. 1) контроль; 2) NaCl 24 ч → Э 5ч; 3) NaCl 24 ч → Э 24 ч; 4) Э 24 ч → NaCl 5 ч; 5) Э 24 ч → NaCl 24 ч.

экстракта Q3 в варианте 1. Через 24 часа после действия экстракта на пшеницу, инкубированную в растворе NaCl, подъем величин б.ф./с.ф и м.ф./с.ф превышали контроль на 60-98%. Во втором варианте эффект экстракта Q4 оставался на уровне контроля. Эффект экстракта Q5 имел иной характер: в отличие от экстракта Q4 повышение величин б.ф./с.ф

дантом являются экстракты Q4, Q5.

Различные сорта кино были проверены на устойчивость к абиотическим стрессам, особенно к засолению, засухе и заморозкам, и положительные свойства этой культуры создали более широкий глобальный интерес к ее выращиванию [Jacobsen et al., 2003]. Кроме использования для потребления

человеком, семена киноа используются и в качестве корма для скота и птицы. Киноа является отличным примером «функционального питания», целью которого является снижение риска различных заболеваний [Vega-Galvez et al., 2010]. Киноа обладает высокой питательной ценностью и недавно была использована в качестве новой функциональной пищи благодаря всем этим свойствам; это перспективный альтернативный сорт [Abugoch, 2009]. Киноа отличаются химическим составом и продуктивностью. Реактивные формы кислорода, генерируемые солевым стрессом, приводят к нарушению фотохимических реакций в ЭТЦ ФС II. Наблюдается инактивация донорной стороны в результате генерирования долгоживущей P680+* и Tuz+* радикалов. Инактивация акцепторной стороны вызывается нарушением функции QA→QB [Gasanov et al., 2012]. Подавляемая активность ФСII корректируется действием экстрактов Q3, Q4, Q5. Однако их эффект зависит от условий эксперимента (Рис.2 А, Б). Очевидно, что положительное действие экстрактов, особенно Q4, Q5 на устойчивость ФС II к токсическому действию NaCl связано с химическим составом этих семян, богатых флавоноидами, витаминами и белками. Являясь сильным антиоксидантом, данные экстракты, имея в химическом составе большое количество фенольных соединений, витаминов группы В, С, D, Е, К, РР, холина – низкомолекулярных соединений, по всей вероятности, способны нейтрализовать образующие при стрессе супероксидные анион радикалы, поддерживая таким образом окислительно-восстановительное равновесие между фотосистемами.

ЛИТЕРАТУРА

- Abugoch L.E, Romero N., Tapia C., Silva J. & Rivera M. (2008) Study of some physico-chemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein isolates. J AGR FOOD CHEM, 56: 4745-4750.
- Abugoch L.E. (2009) James Chapter 1 Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. Advances in Food and Nutrition Research 58:1-31.
- Adolf V.I., Jacobsen S.E., Shabala S. (2013) Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), Environ. Exp. Bot. 92: 43–54.
- Bazile D., Pulvento C., Verniau A., Al-Nusairi M.S., Ba D., Breidy J., Hassan L., Mohammed M.I., Mambetov O., Otambekova M., Sepahvand N.A., Shams A., Souici D., Miri K., Padulosi S. (2016) Worldwide Evaluations of Quinoa: Preliminary Results from Post International Year of Quinoa FAO Projects in Nine Countries, Front. Plant Sci. 7: 850.
- Choukr-Allah R., Rao N.K., Hirich A., Shahid M., Alshankiti A., Toderich K., Gill Sh., Butt Kh., Ur R.(2016) Quinoa for marginal environments: toward future food and nutritional security in MENA and Central Asia regions. Front. Plant Sci., 7: 1-11.
- Cusack D. (1984) Quinoa: grain of the Incas, Ecologist. 14:21–31.
- Foyer Ch.H., Noctor G.Redox (2005) homeostasis and antioxidant signaling a metabolic interface between stress perception and physiological responses. The Plant Cell, 17 (7): 1866-1875.
- Ganiyeva R.A., Novruzov E.M., Bayramova S.A., Kurbanova I.M. and HasanovR.A. (2009) Effect of seabuckthorn extract on delayed chlorophyll fluorescence on Cd and Co ions treated wheat seedlings. J. Environ. Biol. 30(6): 1055-1058.
- Gasanov R.A., Aliyeva S.A., Mamedov F. (2012) Delayed Fluorescence in a Millisecond Range- a Probe for the Donor Side-Induced Photoinhibition of Photosystem II. In: Photosynthesis: Overview on Recent Progress and Future Perspectives, (eds: Guruprasad K.N., Hot S., Mohabty P.) K.Publisher, chapter 7: 101-107.
- Gasimova Kh.H., Ali-zade V.M., Yusupova D.M., Toderich K.N., Rakhimova T.(2019) Plant & Fungal Research 2(2): 31-40.

- Gasimova Kh.H., Husiyev E.K., Ali-zade V.M. (2018) The potential for developing non-traditional and traditional forage plants for the salt-affected areas of Kur-Araz lowland. Transactions of the Institute of Molecular Biology & Biotechnologies, ANAS, 2:21-25.
- Goltsev V, Chernev P., Zaharieva I., Lambrev P., Strasser R.J. (2005) Kinetics of delayed chlorophyll a fluorescence registered in milliseconds time range. Photosynth. Res., 84: 209-215.
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. (1999) Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press. 1-25.
- Jacobsen, S.E., Mujica, A., and Jensen, C.R. (2003). The resistance of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. Food Rev. Int. 19: 99–109.
- Jafarova J., Ganiyeva R., Bayramova S., Gasanov R. (2019) The nature of PS II reactions stability under oxidative stress. Bangladesh J.Bot. 48(4): 1029-1035.
- Liu J., and Shi D.C. (2010) Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. Springer, Photosynthetica 48:127-134.
- Mota C., Santos M., Mauro R., Samman N., Matos A.S., Torres D.& Castanheira I. (2016) Protein content and amino acids profile of pseudocereals. Food Chemistry. 193: 55-61.
- Papageorgiou, G.C., and Govindjee (eds.) (2004). Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 19: 817.
- Pereira E., Encina-Zelada C., Barros L., Gonzales-Barron U., Cadavez V., & Ferreira I.C.F.R (2019) Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd. (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food. Food Chemistry. 280:110-114.
- Pradedova E.V., Isheeva O.D., Salyaev R.K. (2011) Classification of the antioxidant defense system as the basis for the rational organization of an experimental study of oxidative stress in plants. Plant Physiol. 58 (2):177-185 [Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Салыев Р.К. (2011) Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений. Физиология растений, 58 (2): 177-185.
- Ruiz K.B., Biondi S., Osés R., Acuña-Rodríguez I.S., Antognoni F., Martínez E.A., Mosqueira, Coulibaly A., Canahua-Murillo A., Pinto M., Zurita-Silva A., Bazile D., Jacobsen S.E., Molina-Montenegro M.A. (2014) Quinoa biodiversity and sustainability for food security under climate change. A review, Springer, Agron. Sustain. Dev. 34:349–359
- Vega-Galvez A., Miranda M., Vergara J., Uribe E., Puente L. and Martínez E.A. (2010) Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: A review. J Sci Food Agric. 90: 2541–2547.
- Wang C., Zhang S.H., Wang P.F., Hou J., Zhang W.J., Li W., Lin Z.P. (2009) The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. Chemosphere. 75 (11): 1468-76.
- Zhu N., Sheng S., Edmond D.L., Karwe M.V., Rosen R.T. and Ho C.T. (2001) Antioxidative flavonoid glycosides from quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). J. Food Lipids. 8:37-44.

Duz stresi şəraitində tilakoid membranının qorunmasında kinoya (*Chenopodium quinoa* Willd.) toxumu ekstraktlarının qoruyucu rolu

X.H. Qasımova, R.A. Qəniyeva, V. M. Əli-zadə
AMEA Botanika İnstitutu, Badamdar şossesi 40, Bakı, AZ1004, Azərbaycan

NaCl-un təsiri ilə yaranan oksidləşmə gərginliyi şəraitində fotosistem II (FT II) aktivliyinin qorunmasında Kinoya bitkisinin (*Chenopodium quinoa*) müxtəlif sortlarının toxumlarının

dan alınan ekstraktların antioksidant (AO) xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. Tədqiqatlar flüoresensiya üsulu ilə (msan GF XI a) NaCl məhlulunda inkubasiya edilmiş buğda cücərtisinin yarpaqlarında (*Triticum aestivum*) *in vivo* şəraitində aparılmışdır. Müşahidə olunan msan GF XI a induksiya keçidlərinin dəyişiklikləri həm donör, həm də akseptor tərəflərdə NaCl FS II-nin elektron nəqliyyat zəncirinin (ENZ) aktivliyinin pozduğunu nümayiş edib. Bu şərtlərdə ekstraktlar FS II-nin aktivliyinin qorunmasında korrektiv təsir göstərib. Ekstraktların antioksidant xüsusiyyətləri onların kimyəvi tərkibində fotosintetik membrana zərər verən reaktiv molekullar kimi sərbəst radikalları zərərsizləşdirə bilən çox sayda B, C, D, E, K, PP vitaminləri, fenol birləşmələrinin, xolin-aşağı molekullu birləşmələrin olması ilə əlaqələndirilə bilər.

Açar sözlər: kinoya, ekstraktlar, reaktiv oksigen növləri, NaCl, fotosistem II

Protective role of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seed extracts in the protection of the thylakoid membrane under conditions of salt stress

Kh.G. Gasimova, R.A. Ganiyeva, V. M. Ali-zade
Institute of Botany, ANAS, Badamdar 40, Baku, AZ1004, Azerbaijan

The antioxidant (AO) properties of extracts obtained from seeds of different varieties of the Quinoa plant (*Chenopodium quinoa*) in the protection of the activity of photosystem II (PS II) under conditions of oxidative stress caused by the action of NaCl were studied. The studies were carried out *in vivo* on the leaves of wheat seedlings (*Triticum aestivum*) incubated in a NaCl solution by the fluorescence method (msec DF Chl a). The observed changes in the induction transitions of msec DF Chl a indicated a suppression of the NaCl activity of the electron transport chain (ETC) of PS II on both the donor and acceptor sides. Under these conditions, the extracts showed a corrective effect in protecting the activity of PSII. The antioxidant (AO) properties of the extracts are probably due to the presence in their chemical composition of a large number of phenolic compounds of vitamins B, C, D, E, K, PP, choline - low molecular weight compounds that are able to neutralize free radicals acting as reactive molecules, causing damage to the photosynthetic membrane.

Keywords: quinoa, extracts, reactive oxygen species, NaCl, photosystem II