

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ СТАНУ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТКАНИН НАСІННЯ *ZEА MAYS L.* ЗАЛЕЖНО ВІД ТРИВАЛОСТІ ЗБЕРІГАННЯ

Боброва М.С.¹, Голодаєва О.А.²

¹Центральноукраїнський державний університет імені Володимира Винниченка
вул. Шевченка, 1, 25006, м. Кропивницький

²Міжнародний європейський університет
пр. Академіка Глушкова, 42, 03187, м. Київ
kazna4eeva@gmail.com, elena.golodaeva@gmail.com

У статті розкрито вплив тривалості зберігання насіння на зміни значення показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи. Основним маркером прооксидантної активності обрано супероксиданіонрадикал, рівень деструктивної дії якого визначали за зростанням концентрації ТБК-активних продуктів. Ензимними складовими антиоксидантної лінії захисту в дослідженні обрано супероксиддисмутазу та каталазу. Маркерними неферментативними антиоксидантами обрано глутатіон та аскорбінову кислоту. Наслідки впливу прооксидантів та ступінь вільнорадикального перекисного окиснення макромолекул оцінювали за зміною активності цитохромоксидази. Тривалість експозиції складала 12 місяців, заміри показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи проводили в тканинах зернівок *Zea mays L.*, щомісячно. Експериментально встановлено загальне зростання вмісту супероксиданіонрадикалу та малонового діальдегіду за весь дослідний період та динаміку помісячного зростання. Здійснено порівняння впливу ферментної та низькомолекулярної лінії антиоксидантного захисту, здійснено обрахунок щомісячної зміни значення її показників. Підтверджено, що відсоток зростання рівня вільнорадикального перекисного окиснення макромолекул та зменшення антиоксидантного захисту зі збільшенням терміну зберігання тканин залежить від величини стартового рівня показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи. Виявлено періоди стрибків зростання прооксидантної активності та відповідного зниження антиоксидантного захисту, що свідчить про підвищену чутливість насіння до зміни екологічних факторів та дії стресових чинників, що слід враховувати для забезпечення оптимального терміну посадки насіння та догляду за ним. *Ключові слова:* прооксиданти, антиоксиданти, аскорбінова кислота, каталаза, глутатіон, супероксиданіонрадикал, *Zea mays L.*

Features of changes in the state of the prooxidant-antioxidant system of seed tissues *Zea mays L.*, depending on the duration of storage. Bobrova M., Holodaieva O.

The article reveals the influence of the duration of seed storage on changes in the values of indicators of the state of the pro-oxidant-antioxidant system. The superoxide anion radical was selected as the main marker of pro-oxidant activity, the level of destructive action of which was determined by the increase in the concentration of TBA-active products. Superoxide dismutase and catalase were selected as enzyme components of the antioxidant line of defense in the study. Glutathione and ascorbic acid were selected as marker non-enzymatic antioxidants. The effects of prooxidants and the degree of free radical peroxidation of macromolecules were assessed by changes in cytochrome oxidase activity. The duration of the exposure was 12 months, measurements of the indicators of the state of the pro-oxidant-antioxidant system were carried out in the tissues of *Zea mays L.* grains, monthly. The general increase in the content of superoxide anion radical and malondialdehyde over the entire experimental period and the dynamics of monthly growth were determined experimentally. A comparison of the effect of the enzymatic and low-molecular line of antioxidant protection was made, and the monthly change in the value of its indicators was calculated. It has been confirmed that the percentage of increase in the level of free radical peroxidation of macromolecules and decrease in antioxidant protection with increasing tissue storage time depends on the value of the starting level of indicators of the state of the pro-oxidant-antioxidant system. Periods of jumps in the growth of pro-oxidant activity and a corresponding decrease in antioxidant protection were revealed, which indicates the increased sensitivity of seeds to changes in environmental factors and the action of stress factors, which should be taken into account to ensure the optimal timing of seed planting and its care. *Key words:* prooxidants, antioxidants, ascorbic acid, catalase, glutathione, superoxidation radical, *Zea mays L.*

Постановка проблеми. Вміст біологічно-активних речовин в продуктах харчування залежить від терміну їх зберігання. Таким чином навіть найбільш корисні продукти, ретельно підібрані для забезпечення потреб здорового харчування можуть з часом не лише втрачати користь, а й утворювати шкідливі речовини [1, 17, 20]. Найбільш яскравим науковим

обґрунтуванням вищеокресленого є зміна стану прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС) організму. Так, антиоксиданти (АО) є природними протекторами нашого організму від дії стресорів різної природи [6]. Зменшення вмісту АО в організмі призводить до зростання кількості прооксидантів (ПО), представлених активними формами Оксигену

(АФО), іншими вільними радикалами та продуктами їх перетворення [14], які зумовлюють перекисне окиснення біополімерів, руйнування мембран, порушення поділу та загального метаболізму. АФО руйнують біологічно активні речовини, синтезовані нашим організмом та отримані з продуктів харчування, що спричинює зниження харчової цінності продуктів, їх метаболічної здатності, а отже і їх користі [9, 11, 16]. Саме тому проблема дослідження залежності стану ПАС від тривалості зберігання рослинної продукції має вагоме практичне значення та посилену актуальність.

Мета дослідження – виявити закономірності зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від термінів зберігання рослинної продукції.

Актуальність дослідження. Кукурудза є однією з основних сільськогосподарських культур в Україні протягом принаймні останнього десятиліття, що має широке коло застосування в різноманітних галузях промисловості. Для дієтологів, прихильників здорового способу життя та правильного харчування слід обов'язково враховувати термін зберігання рослинної продукції при плануванні харчового раціону, адже рослинна продукція, що піддавалася тривалому зберіганню може містити зовсім низький базовий рівень АО, або не містити їх взагалі. Порушення балансу прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС) в тканинах насіння призводить до зменшення його схожості, що у свою чергу веде до зайвих витрат при закупівлі насіння, нераціонального використання посівних площ та екстенсивного господарювання [3]. Все вищезазначене посилює актуальність теми дослідження та її вагоме практичне значення для широкого кола читачів і споживачів.

Зв'язок авторського доробку із важливими науковими та практичними завданнями. Основними завданнями проведеного дослідження стали:

1) дослідити зміну вмісту ферментних АО в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від терміну зберігання;

2) виявити зміну вмісту низькомолекулярних АО в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від терміну зберігання;

3) експериментально підтвердити зміну вмісту ПО в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від терміну зберігання;

4) встановити зміну вмісту продуктів вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) мембран в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від терміну зберігання;

5) дослідити зміну активності маркерів ВРПО мембран в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від терміну зберігання;

6) прослідкувати зміну балансу ланок прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС) в тканинах насіння *Zea mays L.*, залежно від терміну зберігання рослинної продукції.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вивчення ролі окремих компонентів ПАС проводили ряд передових вчених [2, 7, 8, 12, 13]. Наймасштабнішою біохімічною школою, що регулярно працює в даному напрямку є школа Ніколаса Смірнова [17, 18]. В Україні в даному напрямку результати численних досліджень описані в роботах О.П. Дмитрієва, З.М. Кравчука, Ю.Т. Дьякова, Ю.Є. Колупасва, Ю.В. Карпеця, В.А. Костюка, М.Н. Мерзляка, О.І. Цебржинського [4, 5, 9, 10]. Основними ферментними АО є супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза [2, 13], низькомолекулярними – аскорбінова кислота (АК) та глутатіон (GSH) [7, 15]. На думку ряду вчених [5, 6, 9] першим ПО, який виникає в рослинній клітині як побічний продукт фотосинтезу є синглетний кисень, що перетворюється на супероксиданіонрадикал ($\bullet\text{O}_2^-$). Мішенню $\bullet\text{O}_2^-$ є клітинні мембрани, результатом ВРПО яких є утворення малонового діальдегіду (МДА) та інших ТБК-активних продуктів [12, 16, 18]. Маркером пошкодження мембран є зміна активності цитохромоксидази, значення якої розкрито в працях Wikström [19].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. Недостатньо висвітленим залишається питання збереження кількісного і якісного вмісту біологічно-активних речовин у складі насіння рослинної продукції, що піддавалася різній тривалості зберігання, що відображається на перспективі та доцільності її подальшого використання в посівних цілях та при плануванні збалансованого харчування.

Новизна. У роботі вперше виявлена залежність між тривалістю зберігання насіння *Zea mays L.*, та зміною рівня генерації супероксиду, вмісту МДА, АК, GSH, активності СОД, каталази та цитохромоксидази.

Методологічне або загальнонаукове значення. В результаті проведеної роботи виявлено найбільш стабільні та лабільні до тривалості зберігання показники стану ПАС, а також часові рамки, на які припадають піки змін значення показників стану ПАС насіння. Результати, отримані при виконанні роботи, використовуються в наукових дослідженнях кафедри фундаментальних та медико-профілактичних дисциплін Міжнародного Європейського університету, а також кафедри природничих наук і методик їхнього навчання Центральноукраїнського державного університету імені Володимира Винниченка.

Виклад основного матеріалу. Об'єктом експериментальних досліджень стали тканини насіння *Zea mays L.* Дослідний матеріал не піддавали дії попередньої термічної обробки та замочування. Гомогенізацію тканин здійснювали механічним шляхом. Кожна дослідна група включала 10 проб.

Методи дослідження. Для кількісного визначення зміни значення показників стану ПАС використовували загальноприйняті класичні методики,

детально описані в наших попередніх роботах [3, 4]. Так, базовий рівень генерації $\bullet\text{O}_2^-$ визначали за допомогою спектрофотометричного тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тесту), для визначення вмісту ТБК-активних продуктів використовували прооксидантний ферум-аскорбінатний буфер та фотометрію. Для оцінки зміни активності СОД визначали відсоток гальмування окислення $\bullet\text{O}_2^-$ адреналіну в адренохром, каталазу визначали титруванням розчином калій перманганату. Титриметрією за Тільмансом визначали вміст АК, концентрацію GSH – за методом Елмана. Активність цитохромоксидази визначали спектрофотометрично. Біохімічні показники вимірювали щомісяця протягом 1 року. Повторність вимірів кожного показника стану ПАС десятикратно.

Результати. Для більшого унаочнення цифрових даних та зручності обрахунку наводимо експериментально встановлений нами базовий рівень ПО та АО в тканинах насіння *Zea mays L.* (табл. 1).

Всі подальші зміни значення показників обрховувалися у відсотках від базового рівня, що дозволило нам представити їх разом на комплексній діаграмі (рис.1). Аналізуючи одержані результати можна стверджувати, що зі збільшенням терміну зберігання до 12 місяців в тканинах насіння *Zea mays L.*, зростає концентрація супероксиданіон-радикалу. Середній показник в кінці експозиції склав 115%, середня швидкість зростання 9,6% на місяць. Щомісячна швидкість зростання вмісту ТБК-активних продуктів також висока (8,1%), що загалом призвело до різниці лише на 97% від початкового рівня.

Середній показник зниження активності каталази в кінці експозиції складає 26%, СОД – 17% від початкового рівня. Середня щомісячна швидкість зменшення активності СОД (6,9%) більша ніж каталази (6,2%), що може свідчити про компенсаторну протекторну роль інших пероксидаз.

Зі збільшенням терміну зберігання концентрація низькомолекулярних антиоксидантів в тканинах насіння *Zea mays L.*, зменшується. Середній показник в кінці експозиції для АК складає 14%, для GSH – 66% від початкового рівня. Середня щомісячна швидкість спадання склала 7,2% для АК та 2,8% для GSH, що підкреслює першочергове значення глютатіону в метаболічних та протекторних процесах.

Порівнюючи ферментну і низькомолекулярну ланку АО захисту звертає увагу переважання останньої, що можливо пояснюється значним різноманіттям та кількісним вмістом мікроелементів, а також протекторною роллю каротинів у складі тканин насіння *Zea mays L.*

Активність цитохромоксидази в тканинах насіння *Zea mays L.*, за час експерименту зменшилась всередньому до 70% від початкового рівня (середня швидкість спадання активності 2,5% на місяць), що свідчить про низький вплив ПО ланки на макромолекули та мембрани клітини і пояснюється потужністю АО ланки. Аналізуючи графік зміни значення показників стану ПАС, наведений на рис. 1, можна стверджувати, що стрибок зростання ПО активності та відповідного зниження АО активності припадає на 7-8 місяці зберігання, що свідчить про підвищену чутливість насіння до зміни екологічних факторів та дії стресових чинників. Це треба обов'язково враховувати для забезпечення оптимального терміну посадки насіння та догляду за ним.

Головні висновки: 1) Зі збільшенням терміну зберігання активність ферментних антиоксидантів в тканинах насіння *Zea mays L.*, падає. Середній показник в кінці експозиції для каталази складає 26%, для СОД – 17% від початкового рівня.

2) Зі збільшенням терміну зберігання концентрація низькомолекулярних антиоксидантів в тканинах насіння *Zea mays L.*, зменшується. Середній показник в кінці експозиції для АК складає 14%, для GSH – 66% від початкового рівня.

Таблиця 1

Базовий рівень значення показників стану ПАС в тканинах насіння *Zea mays L.*

Показник стану ПАС	Значення
Показники прооксидантної активності	
НСТ тест (фоновий рівень), нмоль $\bullet\text{O}_2^-$ /г \cdot с	1,273 \pm 0,015
Δ ТВАар, %	111,83 \pm 5,19
Рівень ВРПО пошкодження	
Активність цитохромоксидази, ОД	0,159 \pm 0,008
Ферментні антиоксиданти	
Активність каталази, $\frac{\text{МКМОЛЬ}}{\text{КГ}\cdot\text{ХВ}}$	0,09 \pm 0,01
Активність СОД, ОД	0,19 \pm 0,01
Низькомолекулярні антиоксиданти	
Концентрація АК, $\frac{\text{ММОЛЬ}}{\text{КГ}}$	0,085 \pm 0,02
Концентрація GSH, $\frac{\text{ММОЛЬ}}{\text{КГ}}$	37,16 \pm 0,99

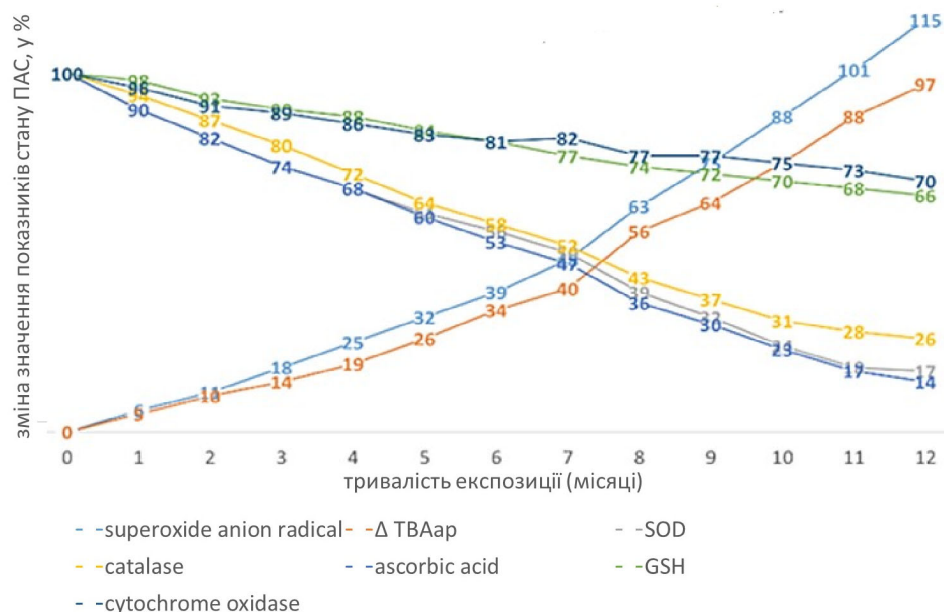


Рис. 1. Вплив терміну зберігання на зміну значення показників стану ПАС в тканинах насіння *Zea mays L.*

3) Зростання вмісту супероксиданіонрадикалу в тканинах насіння *Zea mays L.*, зі збільшенням терміну зберігання до 12 місяців в середньому складає 115%.

4) Концентрація ТБК-активних продуктів в тканинах насіння дослідних рослин за 12 місяців зберігання зросла в середньому на 97%.

5) Активність цитохромоксидази в тканинах насіння *Zea mays L.*, за час експерименту зменшилась в середньому до 70%.

6) Відсоток зростання рівня ВРПО та зменшення АО захисту зі збільшенням терміну зберігання тканин залежить від величини стартового рівня показників стану ПАС.

7) Характерним для тканин насіння *Zea mays L.*, є стрибок зростання ПО активності та відповід-

ного зниження АО активності, який припадає на 7–8 місяці зберігання, що свідчить про підвищену чутливість насіння до зміни екологічних факторів та дії стресових чинників, що слід враховувати для забезпечення оптимального терміну посадки насіння та догляду за ним.

Перспективи використання результатів дослідження. Оптимізація терміну посадки насіння та догляду за ним залежно від піків ПО та АО активності є перспективним та економічно обґрунтованим напрямком інтенсифікації сільського господарства. Розуміння біохімічних механізмів зміни стану ПАС відкриває перспективу використання цих важелів для регуляції метаболізму та адаптації рослин до змінних умов існування.

Література

- Baiano A., del Nobile M.A. Antioxidant compounds from vegetable matrices: Biosynthesis, occurrence, and extraction systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2015. № 56. P. 2053–2068.
- Berwal M.K., Ram C. Superoxide Dismutase: A stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher plants. 2018. *Open access peer-reviewed chapter*. DOI: 10.5772/intechopen.82079
- Bobrova M., Holodaieva O., Koval S., Kucher O., Tsviakh O. Features of changes in prooxidant- antioxidant balance of tissues during activation of seed germination. *Journal of the University of Zulia.* 2022. № 13(37). P. 362–382.
- Bobrova, M., Holodaieva O., Koval S., Kucher O., Tsviakh O. The effect of hypothermia on the state of the prooxidant-antioxidant system of plants. *Revista de la Universidad del Zulia.* № 33. 2021. P. 82–101.
- Дмітрієв О.П., Кравчук З.М. Активні форми кисню та імунітет рослин. *Цитологія і генетика.* 2005. № 39 (4). С 64–75.
- Gill, S. S., Tuteja, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 2010. № 48. P. 909–930.
- Hasanuzzaman M., Nahar K., Anee T.I., Fujita M. Glutathione in plants: Biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *PMBP.* 2017. № 23. P. 249–268.
- Janků M, Luhová L, Petřivalský M. On the Origin and Fate of Reactive Oxygen Species in Plant Cell Compartments. *Antioxidants (Basel).* 2019. № 8(4). P. 105.
- Колупасєв Ю. С., Мусатєнко Л. І., Косаківська І. В., Карпець Ю. В. Вплив саліцилової кислоти і фітогормонів на теплостійкість сім'ядолей *Cucumis sativus L.* у зв'язку зі зрушенням прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. *Укр. ботан. журн.* 2006. № 6. С. 837–844.

10. Колупасв Ю.Є., Карпець Ю.В., Мусатенко Л.І. Участь активних форм кисню в індукуванні солестійкості проростків пшениці саліциловою кислотою. *Доповіді Національної академії наук України*. 2007. № 6. С. 154–158.
11. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2017. 6501046. doi: 10.1155/2017/6501046
12. Morales M, Munné-Bosch S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. *Plant physiology*. 2019. № 180(3). P. 1246–1250.
13. Nandi A., Liang-Jun Y., Jana C.K., Dascorresponding N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019. 9613090. doi: 10.1155/2019/9613090
14. Pacheco J. H. L., M. A. Carballo, and M. E. Gonsebatt. “Antioxidants against environmental factor-induced oxidative stress” in Nutritional Antioxidant Therapies. *Treatments and Perspectives*. 2018. № 8. P. 189–215.
15. Paciolla C.; Fortunato, S.; Dipierro, N.; Paradiso, A.; De Leonardis S. (2019). Vitamin C in Plants: From Functions to Biofortification. *Antioxidants*. 2019. № 8(11). P. 519.
16. Rampon C., Volovitch M., Joliot A., Vrız S. Hydrogen Peroxide and Redox Regulation of Developments. *Antioxidants*. 2018. № 7. P. 159.
17. Smirnoff N. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. NY: *Blackwell Publishing*, 2005. 320 p.
18. Smirnoff N., Arnaud D. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytol*. 2019. № 22. P. 1197–1214.
19. Wikström M., Krab K., Sharma V. Oxygen activation and energy conservation by cytochrome c oxidase. *Chem. Rev*. 2018. № 118. P. 2469–2490.
20. Xu, D.-P.; Li, Y.; Meng, X.; Zhou, T.; Zhou, Y.; Zheng, J.; Zhang, J.-J.; Li, H.-B. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *Int. J. Mol. Sci*. 2017. № 18. P. 96.