

Судакова Анастасия Ивановна
студент 2 курса бакалавриата
,ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет
(РОСБИОТЕХ)»

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗЫ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ ПОЧВЫ

Аннотация. В работе исследована активность супероксиддисмутазы (СОД) в листьях растений в условиях нормы и при засолении почвы. Показано достоверное повышение активности СОД под действием солевого стресса, что свидетельствует об активации антиоксидантной ферментативной системы растения. Полученные данные согласуются с общепринятыми представлениями о роли супероксиддисмутазы в защите клеток от окислительного стресса.

Ключевые слова: Супероксиддисмутаза, антиоксидантные ферменты, солевой стресс, окислительный стресс, засоление почвы.

Введение

Засоление почв является одним из ключевых абиотических стресс-факторов, нарушающих водный и ионный баланс растений и приводящих к накоплению активных форм кислорода [1]. В ответ на окислительный стресс активируется антиоксидантная система, включающая супероксиддисмутазу, каталазу, пероксидазы и неферментные антиоксиданты, которые участвуют в нейтрализации реактивных форм кислорода. При солевом стрессе у ряда растений отмечается достоверное повышение активности супероксиддисмутазы и пероксидазы, что рассматривается как маркер усиления защитных механизмов. В то же время реакция ферментов СОД и других антиоксидантных ферментов носит вид- и сортеспецифический характер, что позволяет использовать их в качестве биомаркеров устойчивости. В ряде работ показано, что предварительная обработка регуляторами (например, брассиностероидами или прайминг-агентами) усиливает активацию СОД и других антиоксидантных ферментов при последующем засолении [4]. Все это указывает на важность анализа активности антиоксидантных ферментов при солевом стрессе для оценки редокс-гомеостаза и селекции устойчивых генотипов растений.

Цель настоящей работы – оценить реакцию активности супероксиддисмутазы в листьях растений на засоление почвы и дать статистически обоснованное заключение о характере изменений.

Объектом исследования были листья растений, выращенных в контроле (норма) и в условиях засоления почвы. Предмет исследования – активность антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД) в листьях растений в условиях нормы и при засолении почвы), а также характер её изменения в ответ на окислительный стресс. Гипотеза исследования – при засолении почвы в листьях растений достоверно повышается активность супероксиддисмутазы, что свидетельствует об активации антиоксидантной ферментативной системы как адаптивной реакции на окислительный стресс.

Материалы и методы

Активность супероксиддисмутазы определяли *in vitro* по принятой методике, основанной на ингибировании фотохимического восстановления нитротетразолия, с пересчётом на условные единицы (усл. ед.) [2], [6].

Принцип метода. Супероксид-анион-радикал, генерируемый в реакционной смеси под действием света (рибофлавин/флавин, NADH-флавинредуктаза или аналогичная система), восстанавливает тетразолий-нитроблю (ТНС) или нитросиний тетразолий (NBT), образуя формазан – окрашенный продукт ($\lambda=520-560\text{nm}$) [3], [5].



Супероксиддисмутаза ускоряет дисмутацию $O_2^{\cdot -}$, снижая скорость образования формазана. Условную единицу СОД принимают как 50% ингибирование скорости образования формазана по сравнению с контролем без фермента.

Подготовка растительного экстракта. Листья гомогенизируют на холоду в 0,05-0,1 М фосфатном буфере, pH 7,8, содержащем 0,1% ПВП-40 и 1-2 мМ ЭДТА.

Гомогенат центрифугируют 15-20 мин при 10-15 тыс. g при 4 °С.

Супернатант используют для определения активности СОД и концентрации белка (по Брэдфорду, Lowry или др.).

Состав реакционной смеси (на примере NBT-/ТНС-метода)

В пробирке (объем 3 мл):

50-100 мМ фосфатный буфер, pH 7,8,

0,1-1,0 мМ ЭДТА,

0,05-0,1 мМ нитротетразолий (NBT) или ТНС,

10-50 мкМ рибофлавин или флаavin-моноклеотид (генерирует супероксид под светом),

0,1-0,5 мл растительного экстракта (проба) или буфер (контроль без фермента).

Проведение инкубации

Смесь выдерживают 10-30 мин при 25-30 °С в условиях рассеянного света или специальной лампы для генерации супероксид-аниона.

Через заданные временные интервалы (0, 5, 10, 15... мин) прогоняют серию измерений OD на спектрофотометре при 520-560 нм.

Параллельно ставят контрольную пробу без растительного экстракта (или с инактивированным экстрактом) – скорость нарастания OD этой контрольной пробы принимают за 100%.

Статистическая обработка

Для статистической обработки использовали t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок (двусторонний тест, $\alpha=0,05$). Анализ проводили с помощью программного обеспечения Excel, реализующего стандартный алгоритм вычисления t-статистики и p-значения.

Результаты исследования

В результате проведенных исследований установлено, что активность супероксиддисмутазы (СОД) в листьях растений при засолении почвы достоверно повышается. В таблице 1 представлены средние значения и стандартные отклонения активности СОД в двух группах: «Норма» (контроль) и «Стресс» (засоление).

Таблица 1

Активность супероксиддисмутазы
в листьях растений в норме и при засолении

Группа	n	Активность SOD
Норма	6	108,00±5,97
Стресс	6	149,33±9,11
Достоверность различий		p<0,001

Согласно данным таблицы 1, средняя активность СОД в условиях стресса составляет 149,3 усл. ед. против 108,0 усл. ед. в контроле, то есть происходит увеличение на 41,3 усл. ед. или примерно на 38,2% относительно контрольного уровня. На рисунке 1 (рис. 1) показана столбчатая диаграмма активности СОД в норме и при стрессе с указанием стандартных ошибок средних.



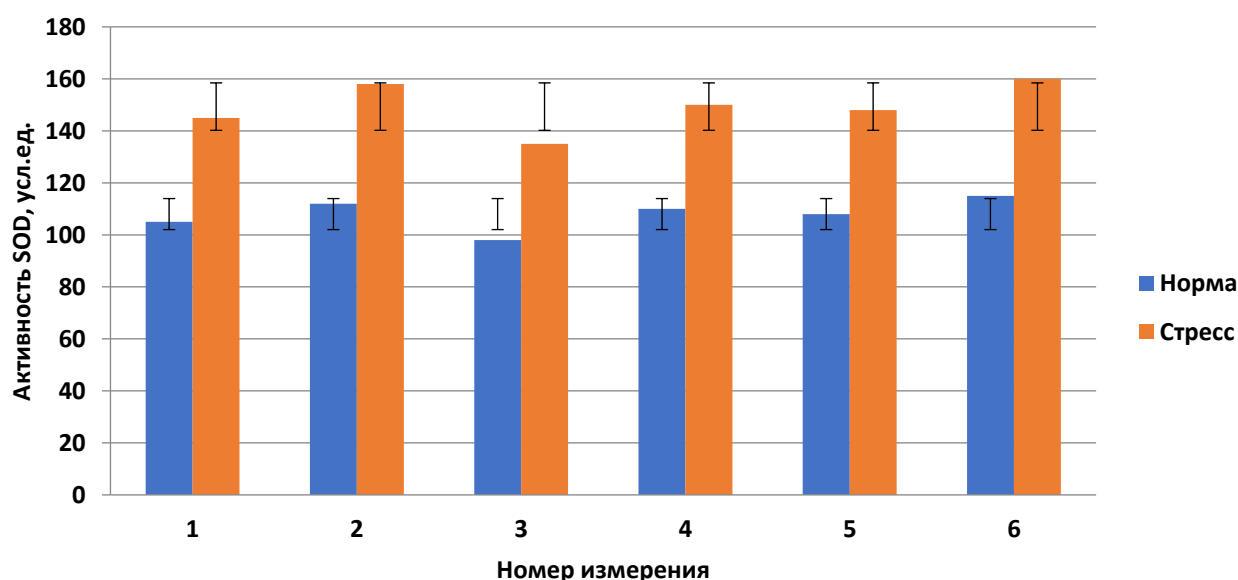


Рис.1. Активность супероксиддисмутазы в листьях растений в норме и при засолении

Как видно из рисунка 1, активность СОД в группе «Стресс» достоверно выше, чем в группе «Норма». При сравнении выборок по t-критерию Стьюдента получена t-статистика $t \approx -9,29$ и p-значение $p \approx 0,0000031$, что значительно ниже порога $\alpha = 0,05$.

Таким образом, выявлено достоверное повышение активности супероксиддисмутазы при засолении, что свидетельствует об активации антиоксидантной ферментативной системы растения в ответ на окислительный стресс. Активность СОД увеличилась на ~38% (с 108,0 до 149,3 усл. ед.), что подтверждается статистически значимым различием между группами.

Обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что при засолении почвы активность супероксиддисмутазы в листьях растений достоверно возрастает примерно в 1,38 раза по сравнению с контролем. Выявлено достоверное повышение активности антиоксидантного фермента ($t \approx -9,29$; $p < 0,001$), что указывает на активацию ферментативной звена антиоксидантной системы в ответ на солевой стресс.

Аналогичные изменения активности СОД при солевом и других стресс-факторах описаны в ряде работ, где показано усиление активности антиоксидантных ферментов в условиях засухи, холодового стресса и повышенного уровня солей в почве. Увеличение активности СОД рассматривается как адаптивная реакция, направленная на снижение концентрации супероксид-аниона и предотвращение дальнейшего накопления пероксида водорода и других высокоактивных окислителей.

Полученные данные позволяют рассматривать активность супероксиддисмутазы как потенциальный биоиндикатор окислительного стресса в растениях и предполагают возможность использования изучаемого показателя при оценке устойчивости сортов к засолению почв.

Заключение

В условиях засоления почвы в листьях растений наблюдается значительное повышение активности супероксиддисмутазы, подтвержденное результатами t-критерия Стьюдента. Выявлено достоверное повышение активности СОД при засолении, что свидетельствует об активации антиоксидантной ферментативной системы растения в ответ на окислительный стресс. Полученные результаты согласуются с современными представлениями о роли антиоксидантных ферментов в защите клеток растений от повреждений, вызванных солевым стрессом

Список литературы:

1. Approaches Involved in the Vegetable Crops Salt Stress Tolerance Improvement: Present Status and Way Ahead / T. K. Behera, W. A. Ansari, M. Aamir [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 12. – P. 787292. – DOI 10.3389/fpls.2021.787292. – EDN TEQPPK.
2. Патент № 2113478 С1 Российская Федерация, МПК C12N 9/02, C12N 1/16, C12R 1/645. способ получения супероксиддисмутазы: № 92009231/13; заявл. 01.12.1992; опубл. 20.06.1998 / А. В. Куюмджиева-Савова, В. А. Савов, Е. Р. Давидов [и др.]; заявитель Совместное российско-германское предприятие "Инбио", Совместное болгаро-российское предприятие "Ромб-ооф". – EDN BDIUQT.
3. Патент № 2272074 С1 Российская Федерация, МПК C12Q 1/26, G01N 33/50. Способ определения активности супероксиддисмутазы: № 2004124850/13; заявл. 13.08.2004; опубл. 20.03.2006 / Л. П. Смирнова, И. В. Кондакова, Е. В. Борунов; заявитель Государственное учреждение научно-исследовательский институт онкологии Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук ГУНИИ онкологии ТНЦ СО РАМН. – EDN GLXZME.
4. Salt stress-induced structural changes are mitigated in transgenic tomato plants over-expressing superoxide dismutase / L. R. Bogoutdinova, E. M. Lazareva, I. A. Chaban [et al.] // *Biology*. – 2020. – Vol. 9, No. 9. – P. 1-18. – DOI 10.3390/biology9090297. – EDN RHCYIF.
5. Harnessing Antioxidants for Abiotic Stress Management: Mechanistic Insights and Prospects for Sustainable Agriculture / F. U. Haider, T. Liu, L. C. R. Aguila [et al.] // *Antioxidants*. – 2026. – Vol. 15, No. 3. – P. 337. – DOI 10.3390/antiox15030337. – EDN DJIFLN.
6. Магин, Д. В., Левин, Г., Попов, И. Н. (1999). Простой метод измерения активности супероксиддисмутазы с помощью фотосенсибилизированной хемилюминесценции. *Вопросы медицинской химии*, 45 (1), 70-79.
7. Tong H, He G, Li S, Huang Y, Pan Y, Wang J. Effects of Controlled-Release Fertilizer Application Rate on Growth, Physiological Traits, and Chlorophyll Fluorescence Responses of *Paeonia delavayi* Seedlings. *Plants* (Basel). 2026 May 16;15 (10):1525. doi: 10.3390/plants15101525. PMID: 42197659

