

АГРОНОМИЯ

4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология

Научная статья

УДК 632.8

doi: 10.28983/asj.y2024i12pp15-19

**Анализ корреляции концентрации капсаицина и активности каталазы
как маркера стрессовых процессов в растениях перца острого
(*Capsicum annuum*) сорта Carolina Reaper F1 Peach**

Мария Михайловна Годяева

Федеральный научный агрономический и инженерный центр ВИМ, г. Москва, Россия

e-mail: airrune@yandex.ru

Аннотация. Исследование вариации активности каталазы, содержания пигментов и капсаицина проводили на культивируемых в фитокамере растениях перца острого сорта Carolina Reaper F1 Peach. Растениям были обеспечены условия близкие к оптимальным для минимизации возникновения дополнительных стресс-факторов. Отбор проб осуществляли на 15, 35 и 55-й дни после начала культивации, исследовали зеленую фитомассу и зрелые плоды растений. Исходя из полученных данных, необходимо отметить, что в процессе роста и развития растения происходит интенсификация процессов фотосинтеза и увеличение концентрации хлорофилла в листьях (от 3,8 до 5,4 мг/г в среднем). Также активизируются стрессовые механизмы, активность каталазы растет в процессе вегетации (до 2,6 мкмоль/мг). Образование завязей и плодов и их вызревание являются для растений стрессовым периодом, что выражается в наибольшем значении активности каталазы, несмотря на увеличение концентрации капсаицина, который также используется растением для редукции стресса и является антиоксидантом. Максимальное содержание капсаицина в плодах составило 124,6 мг/г и коррелировало с увеличением активности каталазы до 2,55 мкмоль/мг.

Ключевые слова: капсаицин; *Capsicum annuum*; каталаза; вегетационный стресс

Для цитирования: Годяева М. М. Анализ корреляции концентрации капсаицина и активности каталазы как маркера стрессовых процессов в растениях перца острого (*Capsicum annuum*) сорта Carolina Reaper F1 Peach // Аграрный научный журнал. 2024. № 12. С. 15–19. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp15-19>.

AGRONOMY

Original article

**Correlation analysis of capsaicin concentration and catalase activity
as a marker of stress processes in *Capsicum annuum* plants
of the Carolina Reaper F1 Peach variety**

Maria M. Godyaeva

Federal Scientific Agronomic and Engineering Center of VIM, Moscow, Russia

e-mail: airrune@yandex.ru

Abstract. The research of catalase activity, pigments and capsaicin content was carried out on plants of the Carolina Reaper F1 Peach variety cultivated in phytochambers. The plants were provided with optimal conditions to minimize the occurrence of additional stress factors. Samples were studied on the 15th, 35th and 55th days after the start of cultivation, green phytomass and ripened fruit were examined. Based on the obtained data, it should be noted that during the growth and development of the plants, photosynthesis processes intensify and the concentration of chlorophyll in the leaves increases (from 3.8 to 5.4 mg/g on average). Stress mechanisms are also activated and catalase activity also increases during the growing season (up to 2.6 mmol/mg). The formation of ovaries and fruits and their maturation is a stressful period for plants, which is expressed in the highest value of catalase activity during this period, despite an increase in the concentration of capsaicin, which is also used by the plant to reduce stress and is an antioxidant. The maximum capsaicin content in fruits was 124.6 mg/g and correlated with an increase in catalase activity to 2.55 mmol/mg.

Keywords: capsaicin; *Capsicum annuum*; catalase; vegetative stress

For citation: Godyaeva M. M. Correlation analysis of capsaicin concentration and catalase activity as a marker of stress processes in *Capsicum annuum* plants of the Carolina Reaper F1 Peach variety. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal*. 2024;(12):15–19. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp15-19>.



Введение. За последние два десятилетия возрос интерес к химическим и функциональным свойствам биологически активных соединений, присутствующих в природных матрицах. В частности, внимание исследователей направлено на изучение плодов перца и его побочных продуктов как источников биологически активных соединений.

Перец (*Capsicum annuum* L.) – однолетнее травянистое растение, относящееся к семейству пасленовых. Оно культивируется в регионах с теплым климатом. Эта одна из наиболее важных с экономической и сельскохозяйственной точек зрения овощных культур во всем мире [1]. По данным FAOSTAT, за последнее десятилетие (с 2016 по 2024 г.) общий объем производства перца увеличился на 25 %. Как правило, перец употребляют в пищу сырым (болгарский перец), а также в виде порошка в качестве специи (перец чили) или в качестве красителя (паприка). Получают различные плоды перца: сладкие, крупные и толстые (зеленый болгарский перец) и тонкие острые (кайенский перец).

Содержание биологически активных веществ различается в зависимости от части плода (околоплодной мякоти и семян), сорта, стадии созревания, климатических условий и условий хранения, а также методов обработки [2]. Каротиноиды, как правило, являются основными фитохимическими веществами, содержащимися в различных сортах перца. Они придают ему высокую коммерческую ценность с точки зрения вкусовых характеристик, цвета и антиоксидантных свойств, а также других биологически активных веществ [3–5].

За остроту вкуса отвечают капсаициноиды, содержащиеся в основном в остром перце. Перец также богат фенольными соединениями (флавоноидами и производными фенольной кислоты), питательными веществами (витамины А и С, минералы, включая железо, кальций и марганец). Количество капсаицина у разных видов и сортов перца разное. Масло, получаемое прямым отжимом из перца (олеорезиноид), как правило, содержит значительное количество капсаицина [6–7]. Олеорезиноид острого перца содержит несколько активных биохимически веществ, таких как капсаицин и каротиноиды. Для растений эфирное масло и олеорезиноид представляют собой важный защитный механизм, поскольку содержат капсаицин, обладающий противогрибковым, бактерицидным, противовирусным, инсектицидным действием [8].

Капсаициноиды, содержащиеся в плодах перца, включает в себя два активных ингредиента в наибольшей концентрации, а именно капсаицин и дигидрокапсаицин, которые составляют 90 % от общего количества. Капсаицин (CAP) – природное фитохимическое соединение (алкалоид), которое накапливается на поверхности плодовой плаценты в различных концентрациях в разных сортах перца, с молекулярной формулой $C_{18}H_{27}NO_3$. Называется ИЮПАК 8-метил-N-ванилил-транс-6-ноненамидом.

Оценка стресса – важнейшая задача в изучении физиологии растений перца острого, в связи с разнообразием биохимических реакций данного вида на неблагоприятные условия среды [9, 10]. Эффективным и известным способом оценки деградационных и стрессовых реакций растительных тканей является анализ активности каталазы, супероксиддисмутазы и пероксидазы [11].

Антиоксидантная система играет решающую роль в смягчении последствий старения и воздействия окружающей среды. Антиоксиданты жизненно важны для поддержания клеточного гомеостаза и защиты растительных тканей от окислительного повреждения при старении. Равновесие между выработкой активных форм кислорода (АФК) и активностью антиоксидантной системы является ключевым фактором, определяющим продолжительность жизни листьев и общее состояние здоровья растений. Во время стресса листьев, когда хлорофилл разрушается, а фотосинтетическая активность снижается, выработка АФК в хлоропластах увеличивается, что приводит к окислительному стрессу. Кроме того, к активации антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутазы, каталаза и пероксидаза, которые нейтрализуют АФК и защищают клеточные компоненты от окислительного повреждения. Действие каталазы и пероксидазы в тканях растений обратно пропорционально друг другу. Если каталаза ответственна за выработку активных форм кислорода, то пероксидаза – за уменьшение их количества в клеточном растворе [12]. Динамическая регуляция активности антиоксидантных ферментов во время стресса растительного организма представляет собой сложный процесс, на который влияют целый ряд внутриклеточных факторов и факторов окружающей среды.



Цель работы – изучение фонового стресса у растений перца острого в процессе вегетации, исходя из количественных характеристик вторичных метаболитов, ответственных за стресс в растении, – каталазы и капсаицина.

Материалы и методы. Для проведения эксперимента выбрали сорт перца острого Carolina Reaper F1 Peach, так как он отличается стабильной генетикой, распространенностью в мире, изученностью и высоким содержанием капсаицина. Культивацию проводили в контейнерах (7 л), в фитокамере с контролируемым светом, температурой и влажностью воздуха. Для культивирования экспериментальных растений выбрали режим освещения день/ночь (16/8 ч) с использованием светодиодных источников с соотношением диодов красные: синие: белые 70:20:10 и photon flux density (PFD) $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Влажность воздуха поддерживали на уровне 50 %, а температуру $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Измерения проводили в листьях на 15, 35 и 55-й дни, в плодах – на 55-й день, у присутствующих на день измерения созревших плодов. Исследуемая группа состояла из 5 растений, культивируемых при идентичных условиях.

Общее содержание хлорофилла и соотношение хлорофилла a/b определяли спектрофотометрически в 100%-м ацетоновом экстракте. Ацетон является одним из наиболее часто используемых растворителей при определении хлорофилла, так как острота красных пиков хлорофилла в ацетоне наиболее выражена. Для анализа брали 0,1 г сырой массы листьев и гомогенизировали с растворителем. Полученную смесь отфильтровывали через стеклянный фильтр с диаметром пор 40–100 мкм. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре УФ-ВИД МТ-М (модель VV300/2, Китай) при следующих длинах волн, нм: 440,5, 662, 644, в присутствии образца сравнения (100 % ацетона) и толщине поглощающего слоя в кюветках 10 мм. Количественную концентрацию пигментов рассчитывали методом Холма – Ветштейна (для 100 % ацетона) [13, 14].

Для определения активности каталазы (CAT) использовали усовершенствованный метод Аеби [15]. Для этого 1 г ткани листа гомогенизировали в 10 мл калийфосфатного буфера (pH 7,0). Гомогенат отфильтровывали и центрифугировали при 8000 g в течение 10 мин для получения прозрачной надосадочной жидкости. Для анализа 2,9 мл фосфатного буфера (pH 7,0) смешивали с 25 мкл ферментного экстракта. Для инициирования реакции к раствору добавляли 90 мкл 3%-й перекиси водорода (H_2O_2). С помощью спектрофотометра измеряли уменьшение оптической плотности при 240 нм в мин. Активность фермента рассчитывали в ммоль/(г·мин) с использованием молярного коэффициента экстинкции (ϵ), который составляет $39,4 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Экстракцию проводили с использованием методики Арьона [15]. Растертые до состояния пасты плоды (всего 100 г) смешивали с гексаном в соотношении 1:2 (плоды:растворитель) по весу, выдерживая смесь при температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 20 ч при постоянном перемешивании в инкубаторе. Затем смесь фильтровали в вакууме с помощью фильтровальной бумаги для отделения остатков экстракта, а растворитель выпаривали и извлекали с помощью центрифуги при температуре $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (при этой температуре соединения не разлагаются). Провели пять различных экстракций (повторений), в ходе которых не было получено значимых различий ($p > 0,05$) по всем измерениям (также определенным с помощью трех повторений). Таким образом, результаты были представлены как среднее значение повторений с соответствующим стандартным отклонением.

Результаты исследований. Так как перец острый является многолетним растением и без экстремальных условий не проявляет склонности к сбрасыванию листьев, то анализ стресса проводили именно по экстракту листовых пластин. Сравнение активности каталазы и концентрации общего хлорофилла показало прямо пропорциональную динамику. Увеличение концентрации хлорофилла является маркером интенсификации процесса фотосинтеза, по результату которого мы имеем общую активизацию биохимических процессов в растении, в том числе и стрессовых (рисунок 1).

Наибольшую вариативность по обеим характеристикам наблюдали на 3-й день, когда растение уже начинало завязывать бутоны, параллельно находясь в активной фазе роста. Разные растения одного вида и сорта проходят этот период вегетационного цикла с разной скоростью, несмотря на идентичные условия. Снижение вариативности на 55-й день связано с замедлением роста и интенсификации процессов цветения и плодоношения. В этот период содержание хлорофилла и капсаицина в листьях было максимальным.



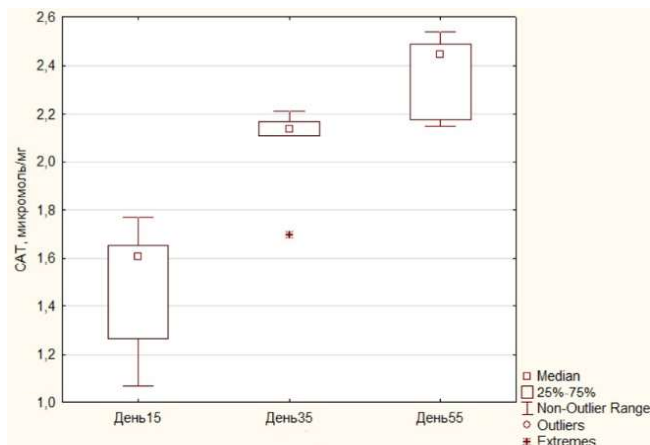
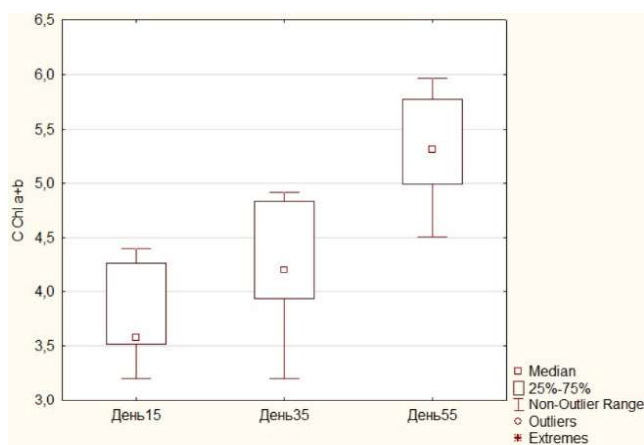


Рисунок 1 – Анализ изменения с течением времени общего содержания хлорофилла (слева) и активности каталазы (справа) в листьях растений перца острого

Figure 1 – Comparing changes in the total chlorophyll content (left) and catalase activity (right) in the leaves of hot pepper plants

Не менее важным объектом данного исследования являются плоды перца острого. Так как определение капсаицина в пульпе, в отличие от каталазы, не показало себя надежным методом, изучение данного вторичного метаболита проводили через экстракцию и олеорезиноид. Все манипуляции с растениями осуществляли на 55-й день культивации, на каждое растение приходилось по три повторности. Активность каталазы также измеряли отдельно для каждого растения на 55-й день (рисунок 2).

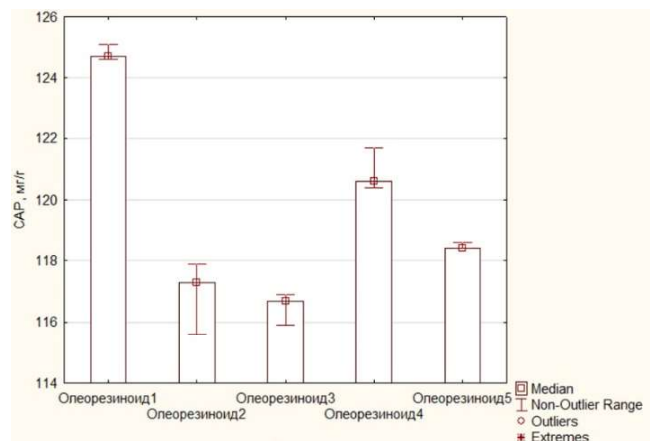
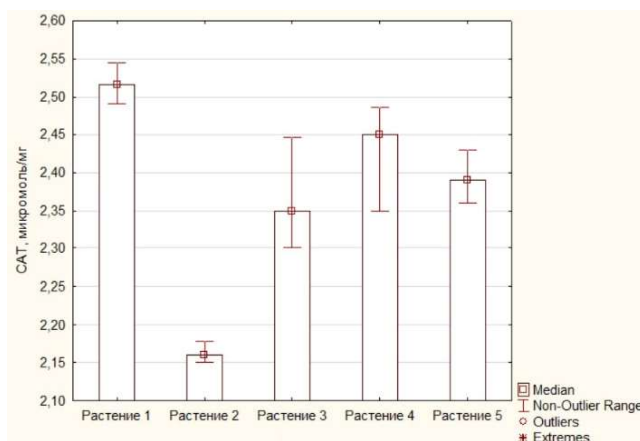


Рисунок 2 – Анализ изменения активности каталазы (слева) и концентрации капсаицина (справа) в плодах перца острого

Figure 2 – Comparing changes in catalase activity (left) and capsaicin concentration (right) in hot pepper fruits

Полученные данные показали наличие корреляции между активностью каталазы в конкретном растении и содержанием капсаицина. Это объясняется тем, что в растении капсаицин также выполняет антиоксидантную роль, частично замещая супероксидазу. Следует также отметить, что разброс и дисперсия характеристик активности каталазы и концентрации капсаицина не коррелировали между собой. Наибольшим содержанием капсаицина и наибольшей активностью каталазы обладало первое растение, отличающиеся от остальных по количеству плодов, – на 20 % больше среднего количества на один куст. Никаких визуальных отличий от других растений не наблюдали.

Закключение. Несмотря на чувствительность и реактивность культуры к разнообразным стресс-факторам, активность каталазы в зеленой фитомассе не превышала 2,6 мкмоль/мг, даже в период плодоношения, что является хорошим значением этой характеристики по сравнению со средними данными для культивации культуры. Увеличение концентрации общего хлорофилла в листьях было прямо пропорционально увеличению активности каталазы во время всего исследуемого вегетационного периода растений. К 55-му дню все растения перешли в фазу

активного плодоношения, что позволило провести измерения и экстракцию олеорезиноида. Накопление капсаицина в олеорезиноиде превышало 100 мг/кг, что также свидетельствует о правильно подобранных условиях культивации. Активность каталазы в плодах перца стручкового также была прямо пропорциональна содержанию капсаицина в изготовленных из них олеорезиноидах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Морфологические и биохимические особенности различных видов перца (*Capsicum chinense*, *C. frutescens*, *C. Baccatum* и *C. Pubescens*) в условиях зоны умеренного климата / М. И. Мамедов [и др.] // Нива Поволжья. 2016. № 3(40). Р. 60–68. [Morphological and biochemical features of various types of pepper (*Capsicum chinense*, *C. frutescens*, *C. Baccatum* and *C. Pubescens*) in a temperate climate zone / M. I. Mammadov et al. *Niva of the Volga Region*. 2016;3(40):60–68].
2. Род *Capsicum* L. и основные болезни сладкого и острого перца (обзор) / Б. А. Хасанов [и др.] // Бюллетень науки и практики. 2021. Вып. 7. № 10. Р. 98–114. [Genus *Capsicum* L. and the main diseases of sweet and hot pepper (review) / B. A. Khasanov et al. *Bulletin of Science and Practice*. 2021;7(10):98–114].
3. Aro E. M., Virgin I., Andersson B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochim. Biophys. Acta*. 1993;1143:113–134.
4. Contreras-Padilla M., Yahia E. M. Changes in Capsaicinoids during Development, Maturation, and Senescence of Chile Peppers and Relation with Peroxidase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998;46(6):2075–2079. DOI:10.1021/jf970972z.
5. Efecto del sistema de secado en el color y rendimiento de la oleoresina de pimentón en la variedad *Capsicum annuum* Trompa de elefante / M. Arjona et al. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA. Catamarca: Universidad Nacional de Catamarca; 2002.
6. Extraction, purification, bioactivity and pharmacological effects of capsaicin: a review / F. Wang, Y. Xue, L. Fu, Y. Wang, M. He, L. Zhao, X. Liao. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021. P. 1–29. DOI:10.1080/10408398.2021.1884840.
7. FAOSTAT open info source (2024). Available at: <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/pepper/ru>.
8. Holm G. Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agric. Scand*. 1954;(4):457–471.
9. Huseynova I. M., Aliyeva D. R., Mammadov A. C. Hydrogen peroxide generation and antioxidant enzyme activities in the leaves and roots of wheat cultivars subjected to long-term soil drought stress. *Photosynthesis Research*. 2015;125(1-2): 279–289. DOI:10.1007/s11120-015-0160-7.
10. Influence of Fruit Ripening on the Total and Individual Capsaicinoids and Capsiate Content in Naga Jolokia Peppers (*Capsicum chinense* Jacq.) / E. Vázquez et al. *Agronomy*. 2020;(10):252.
11. Phytochemical Study of Capsaicinoids Extracted From Indian Varieties of *Capsicum Annuum* and Quantification of Capsaicin By Chromatographic Methods / K. Aditi et al. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2021;11(4): 47–55.
12. Progression of the Total and Individual Capsaicinoids Content in the Fruits of Three Different Cultivars of *Capsicum chinense* Jacq. / J. Olguín-Rojas et al. *Agronomy*. 2019;(9):141.
13. Riquelme N., Matiacevich S. Characterization and evaluation of some properties of oleoresin from *Capsicum annuum* var. cacho de cabra, *CyTA – Journal of Food*. 2016;15(3):344–351. Available at: <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1256913>.
14. Spurr A. R., Harris W. M. Ultrastructure of Chloroplasts and Chromoplasts in *Capsicum annuum*. I. Thylakoid Membrane Changes During Fruit Ripening. *American Journal of Botany*. 1968;55(10):1210. DOI:10.2307/2440743.
15. Wettstein D. Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Exp. Cell Res*. 1957;(12): 427–434.

Статья поступила в редакцию 03.10.2024; одобрена после рецензирования 30.10.2024; принята к публикации 01.11.2024.
The article was submitted 03.10.2024; approved after reviewing 30.10.2024; accepted for publication 01.11.2024.

