

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології

_____Юлія КОЛОМІЄЦЬ
(підпис)

« _____ » _____ 2026 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики

_____Світлана ПРИЛУЦЬКА
(підпис)

« _____ » _____ 2026 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: « Розбалансування активності антиоксидантних ферментів банану за дії стресорів»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерія»

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук,
доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

Кандидат сільськогосподарських
наук, доцент

_____ **Наталія НЕСТЕРОВА**
(підпис)

Виконала

_____ **Дарина ІВАНИЩЕНКО**
(підпис)

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики, д.б.н., професор

_____ Світлана ПРИЛУЦЬКА

«_____» _____ 2026 р.

ЗАВДАННЯ

**ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
ЗДОБУВАЧУ**

Іванищенко Дарина Михайлівна

Спеціальність : 162 « Біотехнології та біоінженерія »

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерія»

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи

« Розбалансування активності антиоксидантних ферментів банану за дії
стресорів »

затверджена наказом від «30» жовтня 2025 року № 2596 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру: «21» травня 2026 р.

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи:

статті літературних інтернет-джерел про особливості функціонування антиоксидантної системи банану, загальні протоколи вимірювання активності ферментів.

Перелік питань, що підлягають дослідженню: 1) проаналізувати наукову літературу щодо фізіолого-біохімічних особливостей відповіді рослин роду *Musa* на стресові чинники; 2) оцінити динаміку активності SOD, CAT, POD як основних ферментів захисту; 3) встановити кореляцію між інтенсивністю дії стресора та ступенем реакції відповідних ферментів; 4) пояснити причини порушення балансу між генерацією АФК та роботою ферментативної системи (розбалансування).

Дата видачі завдання: «30» жовтня 2025 р.

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної
роботи**

_____ **Наталія НЕСТЕРОВА**

Завдання взяла до виконання

_____ **Дарина ІВАНИЩЕНКО**

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна дипломна робота на тему «Розбалансування активності антиоксидантних ферментів банану за дії стресорів» виконана за обсягом в 50 сторінок, включаючи 17 рисунків, 7 таблиць та 47 використаних джерел.

Ключові слова: *MUSA ACUMINATA; ФЕРМЕНТИ SOD, CAT, POD; АФК; АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА; СТРЕС-ФАКТОРИ; РОЗБАЛАНСУВАННЯ.*

Мета роботи: аналіз динаміки антиоксидантної відповіді ферментативної системи банана на дію різних видів стресорів.

Об'єкт дослідження: механізми антиоксидантної відповіді рослинної клітини банану на вплив абіотичного стресу та процеси розбалансування.

Предмет дослідження: активність ферментів супероксиддисмутази, каталази та пероксидази у тканинах банану.

Основними завданнями для виконання: провести аналіз наукової літератури про значення антиоксидантної системи захисту бананів під впливом абіотичних стресорів; охарактеризувати дію основних антиоксидантних ферментів при оксидативному стресі; визначити зміни активності ферментів SOD, CAT, POD в зразках за допомогою відповідних методів; оцінити рівень розбалансування антиоксидантної системи у контрольних і дослідних зразках представників роду *Musa* та узагальнити отримані результати для сформування висновків щодо особливостей функціонування антиоксидантної системи банану та механізми його адаптації в умовах стресу.

Результати дослідження: доведено, що антиоксидантна система банана активно реагує на чинники стресових факторів, підвищуючи активність ферментів в більшості саме в першій половині експерименту, потім поступово знижується через виснаження системи (низькотемпературний стрес). В разі сильного стресу, система захисту може втратити послідовність дії ферментативної ланки через пригнічення певних ферментів і гіперактивацію інших (процес розбалансування при комбінованому стресі). При механічному впливі антиоксидантна система проявляла поступове і відповідне зростання активності всіх ферментів і була максимальною в останній день експерименту.

ABSTRACT

The bachelor's qualifying work on the topic «Imbalance of antioxidant enzymes activity in banana under stress conditions» consists of 50 pages, including 17 figures, 7 tables, and 47 used sources.

Key words: *MUSA ACUMINATA; ENZYMES SOD, CAT, POD; ROS; ANTIOXIDANT SYSTEM; STRESS FACTORS; IMBALANCE.*

The purpose of the work: to analyze the dynamics of the antioxidant response of the banana enzymatic system under influence of various types of stressors.

Object of study: mechanism of antioxidant response of banana plant cell to the effect of abiotic stress and imbalance processes.

Subject of study: activity of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in banana tissues.

The main tasks of this work were to: conduct an analysis of scientific literature on the role of the banana antioxidant defense system under abiotic stress; characterize the action of key antioxidant enzymes during oxidative stress; determine changes in the activity of SOD, CAT and POD enzymes in samples using appropriate methods; assess the level of imbalance in the antioxidant system in control and experimental samples of the genus *Musa*; and synthesize the obtained results to draw conclusions regarding the functioning of the banana antioxidant system and its adaptation mechanisms under stress conditions.

The results of the study: demonstrated that the banana antioxidant system actively responds to stressors, increasing the activity of enzymes in most of the final half of the experiment, then gradually decreases due to system exhaustion (low-temperature stress). In case of severe stress, the defense system may lose the sequential operation of its enzymatic cascade due to the inhibition of certain enzymes and hyperactivation of others (the imbalance process under combined stress). Under mechanical stress, the antioxidant system exhibited a gradual and coordinated increase in the activity of all enzymes, reaching its peak on the final day of the experiment.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	7
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1. Ботаніко-генетична характеристика та біологічна цінність <i>Musa</i>	9
1.2. Морфологічні особливості <i>Musa</i>	10
1.3. Загальна характеристика антиоксидантної системи.....	12
1.4. Особливості неферментативної та ферментативної системи роду <i>Musa</i> .	14
1.4.1. Фермент супероксиддисмутаза (SOD).....	15
1.4.2. Фермент каталаза (CAT).....	17
1.4.3 Пероксидазна система.....	18
1.5. Активність ферментів антиоксидантної системи банану за дії абіотичного стресу. Оксидативний стрес для представників <i>Musa</i>	20
1.5.1. Активність ферментів за дії холоду	20
1.5.2. Активність ферментів за дії посухи	22
1.5.3. Активність ферментів за дії сольового стресу	22
1.5.4. Активність ферментів за дії механічного пошкодження	23
1.5.5. Активність ферментів за дії біотичного стресу.....	24
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	25
2.1. Об'єкт дослідження	25
2.2. Моделювання абіотичних стресів	26
2.3. Екстракція ферментів для аналізу.....	28
2.4. Методи визначення основних антиоксидантних ферментів.....	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ	34
3.1. Вплив низькотемпературного стресу на стан ферментів.....	34
3.2. Результати впливу комбінованого стресу посухи та важких металів на ферменти	38
3.3. Результати дії механічного пошкодження на антиоксидантну систему	41
ВИСНОВКИ	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

SOD – фермент супероксиддисмутаза

CAT – фермент каталаза

POD – фермент пероксидаза

APX – фермент аскорбатпероксидаза

FRAP – метод залізовідновлювальної антиоксидантної здатності

GSH – відновлена форма глутатіону

ROO• – пероксидний радикал

•OH – гідроксильний радикал

•O₂– – супероксид-аніон (радикал)

ARA+ LTC – арахідонова кислота + низькотемпературна попередня обробка

PEG – поліетиленгліколь

PVPP – полівінілполіпіролідин

PMSF – фенілметансульфонілфторид

Cd – кадмій

U*g⁻¹ – одиниці вимірювання загальної активності ферментів

АФК – активні форми кисню

ВСТУП

Банан (*Musa acuminata*) – це одна з найважливіших і провідних агрокультур в світовому ринку через свою високу енергетичну цінність, швидке плодоношення та доступність в ціні. Проте продуктивність та урожайність бананових культур суттєво залежить від впливу зовнішніх стресових факторів: абіотичних (холод, температурні коливання, механічне пошкодження) та біотичних (грибкові чи вірусні захворювання). Універсальною реакцією рослин на дію негативного чинника є активація захисної антиоксидантної системи для боротьби з побічними продуктами життєдіяльності клітини – активними формами кисню (АФК). При злагодженій роботі основних антиоксидантних ферментів при дії помірного стресу відбувається активна нейтралізація радикалів, проте за інтенсивної дії стресорів – відбувається розбалансування цієї системи і пошкодження клітинних структур.

Метою роботи було дослідити зміну активності антиоксидантних ферментів (SOD, CAT, POD) банану (*Musa acuminata*) за умов дії різних типів стресорів та визначити умови при яких відбувається розбалансування захисної системи.

Об’єкт дослідження: механізми відповіді рослинної клітини банану на вплив абіотичного стресу та процеси розбалансування антиоксидантної системи при надмірному стресі.

Предмет дослідження: активність ферментів супероксиддисмутази, каталази та пероксидази у тканинах банану з акцентом на зміну їх кількісних та якісних показників, що зумовлено дією стресових факторів.

Для визначення показників активності ферментів використовувались біохімічні та спектрофотометричні методи за допомогою спостереження швидкості зміни оптичної густини реакційної суміші у видимій і ультрафіолетовій частині спектра.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ботаніко-генетична характеристика та біологічна цінність *Musa*

Банани (*Musa spp.*) — це гігантські багаторічні однодольні трав'янисті рослини порядку Zingiberales, що є спорідненою групою до гарно вивченого порядку Poales, який включає злаки. Основними філогенетичними попередниками сучасних їстівних бананів є види *Musa acuminata* Colla (геном AA) та *Musa balbisiana* Colla (геном BB), географічним центром походження яких вважається Південна, Південно-Східна Азія та Океанія. Морфологічне та генетичне різноманіття роду *Musa*, сформувалося внаслідок природної міжвидової гібридизації. [30] Залежно від способу використання, культуру класифікують на три основні категорії: десертні типи (групи AA, AAA, AAB, ABB), плантани (AAB) та кулінарні сорти (ABB). [20] Банани можна класифікувати як фрукти з найвищим рівнем споживання в розвинених країнах і відіграють ключову роль у забезпеченні продовольчої безпеки багатьох тропічних та субтропічних регіонах.

Процес одомашнення роду *Musa* розпочався в Південно-Східній Азії приблизно 7000 років тому. Він базувався на відборі диплоїдних і триплоїдних безнасінних партенокарпічних гібридів, які надалі активно розповсюджувалися шляхом вегетативного розмноження. Гібридизація між різними видами та підвидами сприяли міграційні процеси людства. У сучасний період близько половини світового виробництва припадає на соматклони, що походять від єдиного триплоїдного генотипу (Cavendish). [12] Постійна еволюція патогенів та шкідників створює суттєву загрозу для глобального врожаю культури. Тож селекційний відбір був спрямований на фіксацію ознак толерантності до абіотичних та біотичних стресових факторів, щоб була можливість культури адаптуватися до широкого спектра тропічних екосистем. [34]

Будучи одними з найпоширеніших фруктів у світі, представники родини Бананові (Musaceae) також належать до найдавніших рослин, що застосовувалися з лікувальною метою. Банан характеризується високою

нутрієнтною цінністю завдяки значному вмісту мінеральних речовин, жирних кислот, білків і вуглеводів. У народній медицині частини рослини застосовували для лікування термічних уражень чи простудних захворювань. Численні біоактивні сполуки, ідентифіковані в складі бананів, зокрема таніни, алкалоїди, феноли, сапоніни та флавоноїди, зумовлюють низку терапевтичних ефектів. [12]

1.2. Морфологічні особливості *Musa*

Рослини роду *Musa* являють собою одні з найбільших трав'янистих багаторічних рослин, висота яких варіюється від 2-9 метрів у культурних сортів й до 10-15 метрів у деяких диких видів. Загалом рослина банана складається з підземного стебла або полунецибулини, повітряного псевдостебла, листя та суцвіття. Полунецибулина є справжнім стеблом, до якого прикріплені коріння та пагони, що розвиваються та забезпечують безперервність життєвого циклу рослини – вона підтримує псевдостебло, листя та суцвіття, яке несе квіти, а згодом і плоди. Рослини є монокарпічними, тобто пагони цвітуть лише 1 раз відмирають після плодоношення. Разом полунецибулина та прикріплені до неї структури утворюють так званий «кущ». Псевдостебло складається з великих листових піхов, що накладаються одна на одну і щільно згорнуті між собою, утворюючи міцну циліндричну структуру, яка повністю залежить від цих піхов у питанні механічної підтримки та забезпечує судинний зв'язок із листям, корінням і плодами.

Листова пластина поступово розширюється у велику довгасту ламіну з вираженою опорною середньою жилкою та добре помітними перисто розташованими паралельними жилками. Процес розгортання листка та інші добові рухи пластинки зумовлені ростом і змінами тургору специфічних моторних клітин пульвінарної зони. Листя розташоване на рослині таким чином, щоб отримувати максимум світла для фотосинтезу, а нові листки постійно просуваються вгору через центр псевдостебла, розширюючись на верхівці та формуючи розкішну крону. Суцвіття являє собою складний колос із

міцним квітконосом, на якому квітки розташовані вузловими пучками на поперечних подушечках, прикритих великими шпатоподібними приквітками, що зазвичай мають пурпурово-червоний колір. Кожний вузловий пучок складається з двох щільно притиснутих рядів квіток, розташованих один над одним. Квітки є функціонально одностатевими: нижні приквіткі суцвіття закривають жіночі квітки, середні можуть закривати нейтральні або гермафродитні квітки, а на кінчику суцвіття розташовані чоловічі квітки. Жіноча квітка складається з видовженої нижньої тригніздової зав'язі з трьох зрощених плодолистків, на вершині яких розташовані 6 листочків оцвіттини, що оточують товстий стовпчик і нефункціональні тичинки. [18]

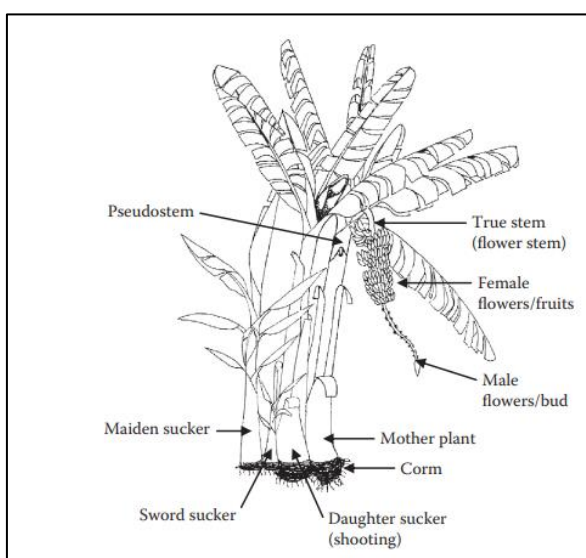


Рис. 1.1.Морфологія рослини банану [18] **Рис 1.2.** Етапи дозрівання плодів [19]

Безнасінні плоди розвиваються партенокарпічно з жіночих квіток, причому численні насінні зачатки можна побачити у вигляді маленьких коричневих об'єктів у центрі плоду. Плід видовжений, вигнутий і більш-менш округлий у поперечному розрізі, проте трикутна форма зав'язі залишається помітною. Плід захищений епідермісом і підлеглим шаром паренхіми, в якому — знаходяться судинні пучки та ряд латексних трубок. Усередині цієї шкірки знаходиться м'якоть — тканина з великих клітин, наповнених крохмалем, який частково перетворюється у цукри в процесі дозрівання. Під час розвитку плід повільно вигинається внаслідок негативної геотропічної реакції. [18]

1.3. Загальна характеристика антиоксидантної системи

Деструктивний вплив надмірної інтенсивності окисно-відновних процесів на клітинні структури обумовлює критичну необхідність підтримання редокс- гомеостазу. Ця біологічна доцільність зумовлює наявність у рослинних організмах арсеналу сполук із високим антиоксидантним потенціалом. [10]

Історія технологічного використання антиоксидантів почалася наприкінці XIX століття в гумовій промисловості. Згодом антиоксиданти стали фундаментальним інструментом у харчовій індустрії, дозволивши стримувати окислювальне псування ненасичених жирів та запобігати прогірканню продуктів під час зберігання.

Сьогодні встановлено, що антиоксиданти виконують критичну функцію як у харчових продуктах, так і в біологічних системах, нівелюючи деструктивний вплив активних форм кисню (АФК). АФК – являють собою групу сполук із високою реакційною здатністю, які є закономірними побічними продуктами метаболізму в аеробних умовах. АФК можна поділити на 2 групи: вільні радикали і не радикали. Вільними радикалами є ті молекули, що містять один чи більше неспарених електронів і надають реакційної здатності. Коли 2 вільні радикали ділять свої неспарені електрони, утворюються нерадикальні форми. [7] Активація молекулярного кисню відбувається або шляхом передачі енергії (формування синглетного кисню), або через послідовне одноелектронне відновлення, що генерує супероксид-аніон, пероксид водню та високотоксичний гідроксильний радикал. У низьких концентраціях АФК виконують корисну сигнальну функцію, регулюючи ріст та адаптацію рослини, проте їх надлишок призводить до оксидативного стресу. Для цього було сформовано багаторівнева антиоксидантна система захисту. [31]

Антиоксидант – це молекула, здатна інгібувати окислення інших молекул. Також антиоксидант можна описати як речовина, яка безпосередньо поглинає АФК або пригнічує його вироблення. Механізм їхньої дії базується на інгібуванні стадій ініціації та пролонгації окислення, що забезпечує суттєве уповільнення деградаційних процесів в продуктах. Вимоги для антиоксидантів

є такі: повинні бути не дорогими; ефективними і нетоксичними в низьких концентраціях; високостабільними та витримувати обробку; не мати власного запаху, кольору чи смаку; мати гарну розчинність в продукті.

Антиоксиданти зменшують пошкоджуючий вплив вільних радикалів на клітини. Окиснення пригнічується за дії двох механізмів: первинні антиоксиданти (наприклад, фенольні сполуки, зокрема α -токоферол) здійснюють пряму дезактивацію вільних радикалів і активно витрачаються впродовж індукційного періоду та вторинні антиоксиданти діють опосередковано через хелатування йонів металів. Характерною особливістю вторинних антиоксидантів є їхня залежність від синергістів: наприклад лимонна кислота ефективна лише за наявності металів, а аскорбінова кислота – у поєднанні з токоферолами.

Ефективність захисту визначається не лише структурою молекул, а й температурою, інсоляцією та концентрацією прооксидантів. Для оцінки антиоксидантного потенціалу застосовують спектрофотометричні методи *in vitro*, наприклад FRAP, який фіксує здатність зразка нейтралізувати радикальні сполуки. [13]

Антиоксидантна система бананів є складною і динамічною структурою, ефективність в ній визначається через склад біоактивних сполук. Основний індикатор антиоксидантної активності плоду є загальний вміст фенолів. Дослідження різновидів бананів свідчать, що десертні сорти та подвійного призначення (Nendran) мають вищу концентрацію антиоксидантів порівняно з технічними (кормовими) сортами. Загалом представники генетичних груп ААВ та ААА демонструють найкращі показники захисної активності.

В процесі дозрівання відбувається трансформація метаболічного профілю: на тлі розщеплення крохмалю зростає вміст розчинних цукрів та деяких вільних фенолів, що підвищує здатність плоду нейтралізувати вільні радикали. При цьому антиоксидантний потенціал розподілений не рівномірно: шкірка містить більшу кількість досліджувальних захисних сполук, ніж м'якоть, адже виконує бар'єрну функцію для всього плоду. [20]

Активні форми кисню детоксуються клітинами через ферментативну та неферментативну антиоксидантну активність.

1.4. Особливості неферментативної та ферментативної системи роду *Musa*

Неферментативні антиоксиданти включають низькомолекулярні сполуки: аскорбінову кислоту, глутатіон, флавоноїди, токоферол та каротиноїди. Механізм їхньої дії базується на стабілізації мембран шляхом взаємодії з поліненасиченими ацильними групами ліпідів та захисті процесів фотосинтезу й дихання.

1. Вітамін С (аскорбінова кислота) – забезпечує внутрішньоклітинну та позаклітинну антиоксидантну здатність шляхом поглинання вільних радикалів кисню. Вона ефективно нейтралізує накопичені АФК прямими чи непрямими способами.

2. 2-Глутатіон (GSH) – у великих кількостях присутній у всіх компартментах і основним розчинним антиоксидантом. Співвідношення GSH/GSSG (окислений глутатіон) є основним фактором, що визначає оксидативний стрес; у листках воно має бути більше 20:1.

3. Вітамін Е – ліпідорозчинний антиоксидант, є основним захисним фактором від пошкодження мембрани, оскільки віддає електрон пероксильному радикалу, який утворюється під час перекисного окислення ліпідів. 1 молекула токоферолу може деактивувати до 120 молекул синглетного кисню в хлоропластах.

4. Каротиноїди (β -каротин) – пігменти, що захоплюють світлову енергію та захищають фотосинтетичну систему від фотопошкодження, реагує з пероксильними ($\text{ROO}\cdot$), гідроксильними ($\cdot\text{OH}$) та супероксидними радикалами.

5. Флавоноїди – низькомолекулярні метаболіти, високоефективні у видаленні вільних радикалів, окрім прямого поглинання АФК – вони здійснюють хелатування металів, що запобігає утворенню нових вільних радикалів. [1,7]

Хоча багатий склад флавоноїдів та вітамінів забезпечує захист, стабільна антиоксидантна система бананів неможлива без її «активного ядра», а саме специфічних ферментів. Якщо антиоксиданти-молекули діють як паска для радикалів, то ферментативна ланка, виконує роль каталізатора, що безперервно нейтралізує АФК на різних рівнях.

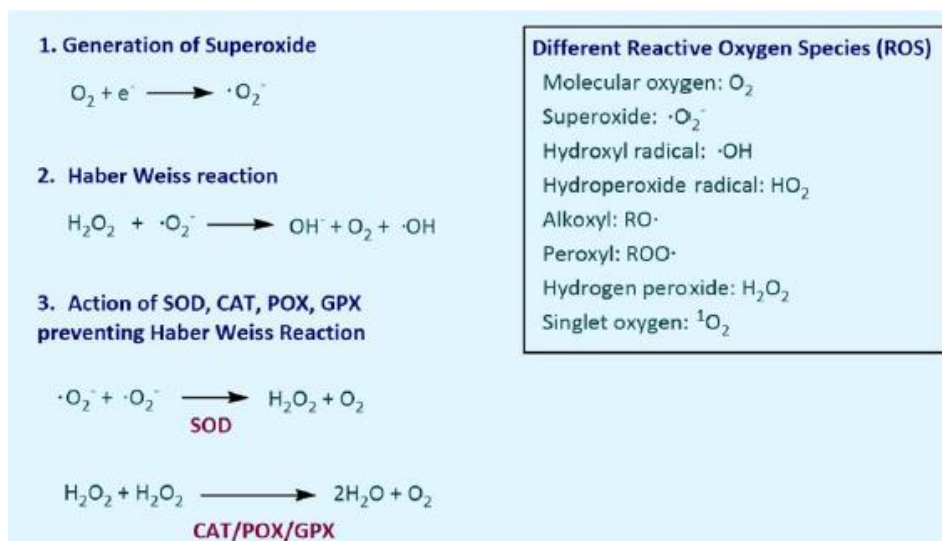


Рис.1.3. Основні реакції, каталізовані системою антиоксидантних ферментів[33]

1.4.1. Фермент супероксиддисмутаза (SOD)

Супероксиддисмутаза – це великий білок, що складається з двох основних доменів. Вторинні структури, що присутні включають α -спіралі та β -листи. Сімейство ферментів супероксиддисмутази поділяється на три категорії: Cu/Zn-SOD, Fe-SOD та Mn-SOD (залежно від відповідних металевих кофакторів таких як Cu, Zn, Mn, Fe та Ni). Але у вищих рослин Ni-SOD не виявлена.

Цей фермент вважається однією з основних в ферментативній системі для поглинання вільних радикалів ($\cdot\text{O}_2^-$), що утворюються внаслідок стресу у рослин. Вони захищають від пошкодження, дисмутуючи супероксидний аніон ($\cdot\text{O}_2^-$), на O_2 та H_2O_2 , зменшуючи ймовірність утворення OH. Реакції дисмутації – це реакції, в яких як окислювальні, так і відновлювальні реакції відбуваються в одному реагенті ($\cdot\text{O}_2^-$) в біологічній системі, що зрештою призводить до утворення двох сполук: однієї з вищим ступенем окиснення (O_2), а іншої з

нижчим ступенем окиснення (H_2O_2). Інші ферменти, такі як CAT та POD, тісно і синхронно працюють з SOD, щоб запобігти утворенню більш шкідливих активних форм кисню. Підвищення рівня SOD є частиною реакції на оксидативний стрес і становить вагоме значення для виживання рослин. [16, 33]

Класифікація супероксиддисмутази:

- SOD1 (Zn/CuSOD) – металевим кофактором є Cu^{2+} та Zn^{2+} , локалізується в цитоплазмі, ядрі, лізосомах, пероксисомах і цинк забезпечує правильне згортання та стабільність білка, нейтралізує супероксид, модифікує клітинне дихання;
- SOD2 (MnSOD) – металевим кофактором є Mn^{3+} , локалізується в матриці мітохондрій і в активному центрі, Mn діє як каталізатор до диспропорціонування ($\cdot\text{O}_2^-$) до кисню та перекису водню;
- SOD3 позаклітинна (esSOD) – металевим кофактором є Cu^{2+} та Zn^{2+} , локалізується в позаклітинному матриксі – регулює рівень АФК поза клітиною). [8]

Доведено, що металеві кофактори (Cu, Zn, Mn, Fe) стабілізують перехідні стани при перетворенні проміжних сполук. Завдяки стабільній електронній конфігурації у стані окиснення +2, ці йони здатні приймати надлишковий електрон від супероксид-радикала. І в результаті подальшої взаємодії з протонами H^+ утворюються кінцеві продукти – O_2 та H_2O_2 . [33]

При проведенні дослідів, при нормальному рН самовільна (неферментативна) реакція розпаду супероксиду відбувається досить повільно – зі швидкістю приблизно $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Однак використання супероксиддисмутази як каталізатора дозволяє прискорити процес у 10 000 разів. Завдяки такій високій ефективності, ферменти групи SOD підтримують оптимальний баланс оксидантів, забезпечуючи надійний захист рослин від деструктивного впливу окисних процесів. [47]

1.4.2. Фермент каталаза (CAT)

Каталаза (CAT) – це надважливий фермент, що забезпечує захист молекул від окислювального стресу. Його головна функція полягає в розщепленні перекису водню на безпечні кисень і воду. Цей фермент є універсальним для всіх аеробних організмів : мікробів, тварин та рослин. [14]

Залежно від гомології, білки CAT поділяють на 3 основні групи: монофункціональні гемвмісні білки («типові каталази»), біфункціональні гемвмісні білки CAT – пероксидази та марганцевмісні (негемові) каталази. Визначено, що «типові» CAT білки найпоширеніші в рослинних пероксисомах. Каталаза має одну з найвищих каталітичних швидкостей, відомих біології. [4] Бо лише одна молекула каталази щосекунди перетворює мільйони молекул H_2O_2 на воду і кисень. [3] У пероксисомах каталаза часто утворює характерні кристалічні «ядра», які добре видно на мікрофотографіях. Це свідчить про здатність ферменту до самоасоціації та взаємодії пероксисом. [4] Робота каталази залежить від рівня субстрату: при низькому вмісті пероксиду проявляє пероксидативну активність, а при високому – каталітичну. На регуляцію діяльності CAT впливають такі чинники як температура, кислотність середовища, концентрація субстрату, а також механізми посттрансляційної модифікації. Крім пероксисом, CAT присутня в мітохондріях, хлоропластах та цитозолі. [14]

Хоча H_2O_2 виконує важливі сигнальні функції в клітині, його надлишок становить сильну загрозу. У високих концентраціях перекис водню вступає в реакцію Фентона з йонами перехідних металів. Результатом стає утворення надзвичайно агресивних гідроксильних радикалів ($\cdot\text{OH}$), які спричиняють незворотне окисне пошкодження білкових структур, ліпідів, ДНК. Зазвичай в рослинній клітині, перекис водню виникає як продукт розщеплення супероксидного аніона під впливом ферментів – SOD1 у цитозолі та SOD2 у мітохондріях. [14]

Супероксид перетворюється на H_2O_2 під дією SOD $\rightarrow$ на початковому етапі молекула пероксиду водню зв'язується з атомом заліза (III) гем групи в активному центрі каталази $\rightarrow$ після зв'язування субстрату фермент зазнає двоелектронного окиснення, що призводить до відновлення пероксиду водню до води (Сполука I має конфігурацію з оксочасткою заліза та катіон-радикалом порфірину) $\rightarrow$ утворений комплекс взаємодіє з другою молекулою H_2O_2 $\rightarrow$ у ході взаємодії відбувається розщеплення O-O зв'язку пероксиду, що супроводжується вивільненням молекулярного кисню та додаткової молекули води (цей етап повертає залізо в його початковий тривалентний стан) $\rightarrow$ по завершенню каталітичного циклу продукти розкладу (вода і кисень) залишають активний центр $\rightarrow$ оновлений фермент перезавантажується та знову готовий до переробки наступної молекули субстрату.

Оскільки CAT має жорстку та стабільну структуру, вона порівняно більш стійка до зміни температури, кислотності чи протеолізу. Вони унікальні тим, що не потребують клітинного відновлювача. [3]

Виявлено, що рослини, яким бракує ферменту каталази, були більш чутливими до солоності та озонового стресу, порівняно з дикими рослинами. Також згідно з дослідженнями, у культур рослин чутливих до дефіциту вологи, посуха спричиняє падіння активності CAT, через що в тканинах починає накопичуватися H_2O_2 . [43]

1.4.3. Пероксидазна система

Рослинні пероксидази (POD або POX) – це гемвмісні білки, поширені в рослинних клітинах як двосубстратні ферменти. Вони спеціалізуються на перетворенні перекису водню на воду і одночасно окиснюючи широкий спектр органічних на неорганічних сполук. Досліджено, що саме завдяки іонам кальцію та наявності чотирьох дисульфідних зв'язків забезпечується стійкість їх тривимірної молекулярної структури. В рослинних тканинах виконують низку критичних функцій: синтез лігніну для зміцнення клітинних стінок;

регуляція росту, а найголовніше – реакції на стресові фактори навколишнього середовища. [17]

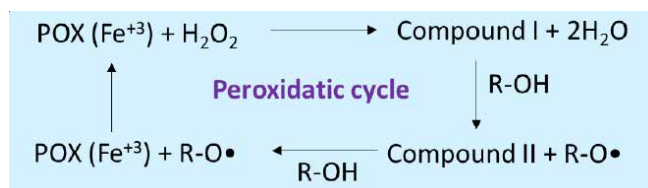


Рис 1.4. Реакції, каталізовані POD [33]

Їх класифікують на три основні групи залежно від походження та локалізації: клас I – охоплює внутрішньоклітинні ферменти, найвідоміший в антиоксидантній системі – аскорбатпероксидаза (APX); клас II – секреторні пероксидази, зокрема лігнінази та Mn-залежні POD; клас III – ферменти, що функціонують в позаклітинному просторі і відіграють ключову роль у поглинанні й нейтралізації перекису водню.

Аскорбатпероксидаза – це фермент, що належить до родини білків пероксидаз класу I (наявна гемова простетична група) та який каталізує перетворення H_2O_2 на воду на кисень, використовуючи аскорбінову кислоту як донор електронів.

Через вищу спорідненість до H_2O_2 , ніж каталаза, APX сприяє максимальній детоксикації перекису водню у хлоропластах, цитозолі, мітохондріях та пероксисомах. [9,42]

Також було встановлено, що аскорбатпероксидази здатні каталізувати окиснення широкого спектра ароматичних сполук, зокрема таких як піроганол, гваякол, *p*-креазол, *o*-діанізін. [44]

Дослідження систем антиоксидантного захисту свідчать, що у відповідь на дію стресорів спостерігається зростання активності APX одночасно з посиленням активності інших ключових антиоксидантних ферментів – каталази, супероксиддисмутази та глутатіонредуктази.

У системі антиоксидантного захисту рослин за участі пероксидаз – аскорбатпероксидаза становить основну роль у підтримці окисно-відновного гомеостазу, а пероксидази класу III – формують «другу лінію» оборони для нейтралізації H_2O_2 під час сильного стресу. [45,44]

1.5. Активність ферментів антиоксидантної системи банану за дії абіотичного стресу. Оксидативний стрес для представників *Musa*

Глобальні зміни клімату провокують біотичні та абіотичні стреси, які критично обмежують продуктивність рослин. На молекулярному рівні ці чинники спричиняють надмірне накопичення активних форм кисню (АФК), зокрема супероксидних радикалів, гідроксильних радикалів, синглетного кисню та пероксиду водню. Це все пошкоджує рослинні організми на структурному рівні та загрожує життєдіяльності клітин. Ефективна детоксикація АФК є умовою виживання і основним механізмом адаптації є активація антиоксидантних ферментів, які проявляють високу активність за дії стресорів. [15]

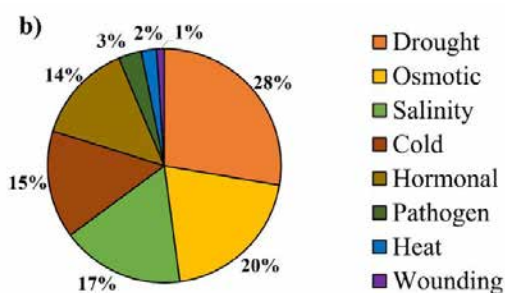


Рис 1.5. Види стресів, що впливають на *Musa spp.* [34]

Абіотичний стрес визначається як сукупність негативних впливів неживої природи, що пригнічують фізіологічні процеси, ріст та загальну продуктивність рослинної клітини. Це такі чинники як, дефіцит вологи, висока концентрація солей чи температурні коливання. Вони зазвичай мають взаємозалежний характер. [46]

1.5.1. Активність ферментів за дії холоду

Низька температура є одним із явищ, що супроводжують зміну клімату та фактором, що обмежують масштаби для вирощування бананів для реалізації потреб на продукти харчування. Банани є теплолюбними, температура їх росту зазвичай становить в межах 15 до 35 С°. Критична температура для культивованих бананів залежить від виду і може коливатися від 10 до 17 С° (в

більшості випадків критично низькою є показник 13 C°). Під впливом холоду швидкість фотосинтезу знижується та відбувається пошкодження клітинних мембран.

Інгібітор синтезу гіберелінової кислоти, уніконазол, зазвичай використовується як ефективний регулятор росту рослин, що сприяє карликовості при вирощуванні бананів. Також саме він підвищує холодостійкість. Щоб підтвердити вплив уніконазолу на холодостійкість бананів, у дослідженні науковці порівняли індуковані ознаки необроблених цим регулятором та оброблених й підданих впливу низьких температур плодів банану. За 4±1 C° некротичні плями на листі з'явилися через 4 год у всіх групах. Через 10 год у контролі та за низьких доз уніконазолу спостерігалось значне в'янення. Через 24 год виявлено, що при застосуванні найбільшої концентрації регулятора – кількість плям та ступінь скручування листа був мінімальним. Саме це свідчить про здатність уніконазолу індукувати холодостійкість.

Для виявлення біохімічних змін, після обробки листа вищезгаданим регулятором, також виміряли активність SOD та POD. Спостерігалось зниження активності SOD після 24 год обробки низькою температурою, через особливість антиоксидантної системи і її нормалізації показників. [32]

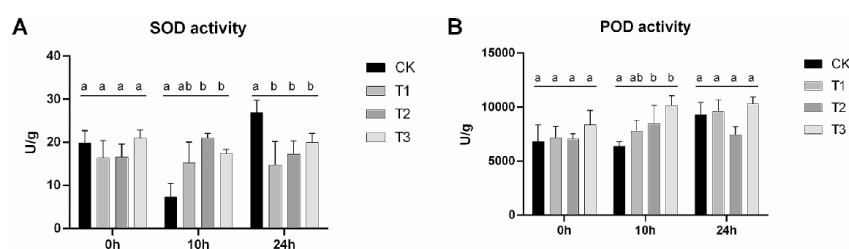


Рис 1.6. Активність SOD(A) та POD(B) при холодовій обробці [32]

Вченими було випробувано ще багато методів для покращення холодостійкості бананів. І нещодавно виявлено, що мелатонін також має здатність до усунення АФК і підвищення активності ферментів антиоксидантної системи. Дослід проводили на 4 групах: контроль (при 28 C°),

мелатонін (М, при 28 С°), холод (Т, при 4 С°) та холод + мелатонін (МТ при 4 С°).

Обробка мелатоніном у групі МТ ефективно нейтралізувала спричинений холодом стрес: рівень $\cdot\text{O}_2$ – знизився майже до 90%, а вміст H_2O_2 повернувся до норми. Це супроводжувалося зростанням загальної антиоксидантної здатності у (1,15 рази) та підвищенням активності ключових ферментів.[24]

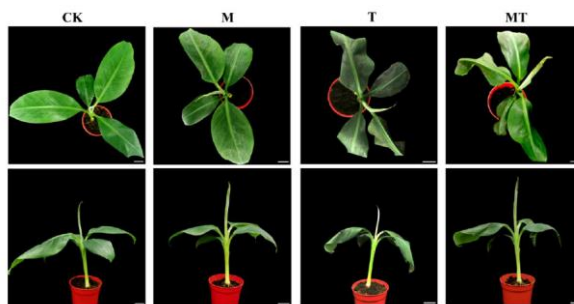


Рис 1.7. Саджанці бананів, після 24 год оброблені та необроблені мелатоніном при температурі 4 С° [24]

1.5.2. Активність ферментів за дії посухи

З'ясовано, що дефіцит води є критичним чинником, що обмежує продуктивність і вирощування *Musa spp.* Зокрема, у високогірних районах Східної Африки падіння річного рівня опадів нижче позначки 1100 мм спричиняє суттєве зниження врожайності від 20 до 60 % відносно показників у більш зволжених зонах. Стійкі сорти до посухи, наприклад *M.balbisiana* (одомашнена в посушливих регіонах) мають вищу активність ферментів SOD, CAT, APX, які ефективно усувають вільні радикали. [34]

У нещодавно проведеному експерименті, активність антиоксидантних ферментів у листі банану, що зазнало стресу від посухи була значно вищою, ніж у поливаних зразках. Висока інтенсивність роботи захисної системи призвела до низького рівня H_2O_2 у стресованих бананових рослинах. [21]

1.5.3. Активність ферментів за дії сольового стресу

Засолення ґрунтів – критичний абіотичний фактор, що загрожує глобальній системі вирощування бананових культур. Сіль створює високий

осмотичний тиск, обмежуючи доступ рослини до води та поживних речовин, що значно гальмує ріст та врожайність.

Для вивчення впливу сольового стресу на банан сорту BD було проведено експеримент на саджанцях для п'яти листків, розмножених *in vitro*. Дослідні рослини протягом трьох тижнів зрошували поживним розчином із додаванням 60 ммоль/л NaCl. Результати показали значне сповільнення росту та негативні морфологічні зміни: листя набуло бурого кольору, з'явилися ознаки хлорозу. Захисна реакція рослини проявилася в активації антиоксидантних ферментів: активність SOD та POD була постійно вищою за контроль. [41]

1.5.4. Активність ферментів за дії механічного пошкодження

Механічне пошкодження плодів та овочів – це травми (подряпини, здавлювання, проколи, удари при падінні), отриманні на різних етапах ланцюга постачання.

Для одного із сортів банану «Gui Jiao 6», китайські вчені виконали експеримент та застосували 3 типи механічного впливу: розріз, прокол та падіння. Результат показав, що активність SOD, CAT, POD та APX, після впливу механічного стресу не підвищилася, а навпаки, стала нижчою ніж в контрольній групі. Причиною може бути те, що всі три види обробки були короткочасними і не мали постійного впливу. Низькі показники призвели до масового накопичення АФК. Проте активність ферменту поліфенолоксидази має протилежну дію – вона ще з більшою активністю каталізувала перетворення фенольних сполук на хінони для протидії патогенам за дії механічного пошкодження через поріз (в контролі залишалась сталою). [40]

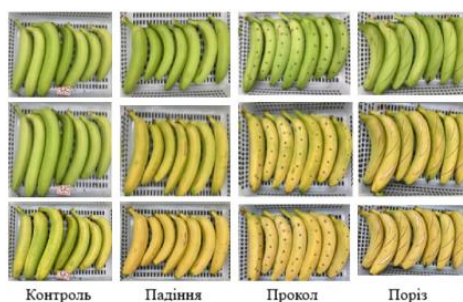


Рис.1.8. Зовнішній вигляд плодів при виконанні експерименту [40]

1.5.5. Активність ферментів за дії біотичного стресу

Фузаріозне в'янення банану, зумовлене грибом *Fusarium oxysporum*, є одним із найбільш небезпечних біотичних факторів, який також може обмежувати нормальне функціонування рослин роду *Musa*. Винятково небезпечними є тропічні штами патогену (TR4), які спричиняють відчутні втрати врожаю у виробництві банану. Інфекційний процес супроводжується фізіологічними та біохімічними змінами, зокрема і оксидативним стресом. [2]

Після проникнення патогену у кореневу систему рослини, починається інтенсивний процес формування АФК, їх надлишок призводить до ушкодження клітинних структур і макромолекул. У рослин банану, інфікованих *Fusarium oxysporum f.sp.cubense*, як правило, спостерігається підвищення активності SOD, CAT і POD, що свідчить про активацію антиоксидантного захисту у відповідь на інфекцію. Підтверджено, що рівень активності цих ферментів корелює зі ступенем стійкості: у резистентних генотипів відповідь є швидшою та інтенсивнішою, ніж у чутливих. Це дозволяє ефективніше контролювати рівень активних форм кисню.

Застосування біологічних агентів, зокрема ризобактерій чи актиноміцетів роду *Streptomyces*, сприяє індукції системної резистентності у рослин *Musa*, що безпосередньо супроводжується додатковим підвищенням активності основних антиоксидантних ферментів. [23,25] Регуляція захисної системи при ураженні грибовим патогеном здійснюється на генетичному рівні за участі транскрипційних факторів та сигнальних шляхів, пов'язаних фітогормонами, такими як саліцилова або жасмонова кислота. Ці сигнальні системи активують експресію генів антиоксидантних ферментів і забезпечують координацію клітинної відповіді на інфекцію. [37]

Тож, антиоксидантні ферменти SOD, CAT і POD є основою для формування стійкості рослин *Musa* до фузаріозного в'янення та їх узгоджена дія підвищує адаптивний потенціал рослин в умовах біотичного стресу.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкт дослідження

Об'єктом дослідження для проведення глибокого аналізу антиоксидантної системи у представників роду *Musa* було обрано вид *Musa acuminata* Colla, який є диплоїдним предком для сьогочасних їстівних сортів бананів (геном AA). Даний вид є зручною моделлю для вивчення і спостереження за метаболічними змінами при дії окиснювального стресу. [26, 5]

Musa acuminata – це багаторічна трав'яниста рослина, яка виглядає як дерево через свій розмір, але за біологічною класифікацією є травою. Головна характеристика – наявність псевдостебла, яке формується за допомогою нашарування листових піхв, які беруть початок від підземного видозміненого пагона. Коренева система знаходиться в більшості поверхнево, що зумовлює високу чутливість до зволоження ґрунту. Листки мають веслоподібну форму, досягаючи в довжину 3-6 метрів. Квіти формуються на суцвітті, що проростає з корму через псевдостебло. Завдяки партенокарпічному розвитку сортів цього виду утворюється безнасінна паренхіма, яка є основним матеріалом даного дослідження. [28, 29]

Природний ареал *Musa acuminata* охоплює субтропічні й тропічні регіони Південно-Східної Азії, Малайського архіпелагу та північної Австралії. Як швидко адаптивний вид, банан загострений швидко заселяє відкриті ділянки лісів після пожеж чи зсувів ґрунту. [29]

Для експериментальної частини був обраний сорт «Dwarf Cavendish», який входить до групи Cavendish. Його назва в перекладі означає «Карликовий Кавендіш» і вказує на відносно невелику висоту стебла (до 2,5 м), а не на розмір плодів. Сорт став комерційним стандартом після 1950-х років через свою компактність і швидке плодоношення при правильному догляді.



Рис.2.1. Фото досліджуваного сорту

Щодо вибору сорту для аналізу активності антиоксидантних ферментів, то група Кавендіш є ідеальним об'єктом через свою генетичну однорідність (клони з триплоїдним набором хромосом AAA), компактність для моделювання стресових умов в лабораторії та високу метаболічну лабільність для швидкого фіксування змін активності ферментів за короткий час. [27, 39]

2.2.Моделювання абіотичних стресів

Для визначення активності антиоксидантних ферментів було проведено серію експериментів з імітації типових екологічних абіотичних стресів.

Моделювання низькотемпературного стресу

Холодовий стрес є одним із найбільш обмежувальних факторів для тропічних рослин. Для *Musa acuminata* критична температура за якої починаються виявлятися ознаки холодового пошкодження це 11-12 °С.

Для експерименту відібрано 16 однорідних плодів банана досліджуваного сорту на стадії технічної стиглості, що характеризується рівномірним яскраво-зеленим забарвленням, однаковим розміром і формою, а також повною

відсутністю механічних пошкоджень, ознак захворювань чи попередньої обробки етиленом.

Схема експерименту передбачає поділ плодів на чотири групи для порівняння впливу шокового охолодження та ступеневої адаптації у поєднанні з арахідоновою кислотою (ARA):

1. Група 1 (контроль) – занурено в дистильовану воду на 1 хв і зберігання при 0 °C 36 днів;
2. Група 2 (ARA) – занурено в 2,4 ммоль/л арахідонової кислоти на 1 хв і зберігання при 0 °C 36 днів;
3. Група 3 (LTC) – занурено в дистильовану воду на 1 хв з подальшим ступеневим охолодженням (по 2 дні при 11 та 2 °C, далі при 0 °C 32 днів);
4. Група (ARA+ LTC) – занурено в 2,4 ммоль/л арахідонової кислоти на 1 хв + ступеневе охолодження за схемою LTC. [38]

Для визначення активності ферментів (SOD, CAT, POD) використаємо м'якуш банана.

Моделювання водного дефіциту і впливу важких металів

Дефіцит вологи можна змоделювати двома способами: припиненням поливу або використанням поліетиленгліколю для створення від'ємного осмотичного потенціалу. Методика встановлення стресу посухи та забруднення кадмієм на банані виду *Musa acuminata* базується на використанні технологій *in vitro* для контрольованого впливу стресорів.

Для підготовки рослинного матеріалу використали верхівки молодих пагонів відростків банана, які культивували *in vitro* на поживному середовищі Мурасіге-Скуга, збагаченому вітамінами, фітогормонами (9.0 мкМ ВАР та 1.0 мкМ IAA), KH_2PO_4 (1.30 мМ) та сахарозою (30.0 г/л). Процес проліферації відбувався при нормальній температурі 25 °C та 16-годинному фотоперіоду, що забезпечило отримання однорідного біоматеріалу для подальших стресових експериментів.

Після другого субкультивування вкоріненні проростки протягом 30 днів піддавались впливу поодиноких та комбінованих впливів стресорів – Cd (490 мкМ $\text{Cd}(\text{OH})_2$ та посухи (1% та 3% PEG 8000). Експериментальна схема включала:

- a) Контроль (група 1)
- b) Окремий стрес Cd (група 2)
- c) Осмотичний стрес від PEG (група 3, 4)
- d) Поєднання двох стресів (група 5, 6).

Після цього ми проводили комплексний аналіз морфо-фізіологічних та біохімічних показників для оцінки впливу стресових факторів на рослину. [11]

Моделювання механічного пошкодження

Для моделювання механічного стресу в наших лабораторних умовах, було взято 6 плодів досліджуваного сорту. Вони мали однаковий розмір та однаковий період досягання (стадія зеленої стиглості), без ознак інфекцій та фізичних дефектів. Потім випадковим чином плоди були розділені на 2 групи: дослідну та контрольну – по 3 штуки в кожній.

У дослідній групі плоди були проколені з інтервалом у 4 см по всій довжині за допомогою скляної хімічної палички, глибина проколу – 1 мм, що імітує лише поверхневе механічне травмування. Плоди контрольної групи залишені без змін. Обидві групи упаковали в індивідуальні поліетиленові пакети та зберігали при стабільній температурі 25°C і відносній вологості повітря 80 % протягом 16 днів, кожні 2 дні проводивши аналіз активності ферментів. [22]

2.3. Екстракція ферментів для аналізу

1) Тканини перикарпію (або тканини листка) 0,5 г подрібнюємо в холодній ступці і суспендуємо в 1,5 мл буферного розчину (натрій-фосфатний буфер 0,1 М) для гомогенізації;

2) Центрифугуємо суспензію при 14000 об/хв протягом 30 хв при температурі 4 °C;

3) Збираємо супернатант для аналізу ферментів у різних об'ємах. [36]

2.4. Методи визначення основних антиоксидантних ферментів

Визначення активності супероксиддисмутази (SOD)

Супероксиддисмутаза є основним ферментом, що ініціює антиоксидантний захист шляхом дисмутації супероксидного аніон-радикалу до менш токсичного пероксиду водню та кисню.

В основі методу лежить здатність супероксиддисмутази інгібувати реакцію відновлення жовтого барвника NBT до синього формазану. Супероксидні радикали генеруються в реакційній системі шляхом фотосенсибілізації рибофлавіну під дією видимого світла, а метіонін у цій системі виступає донором електронів. За відсутності SOD радикали взаємодіють із NBT, утворюючи забарвлений продукт з максимумом поглинання при 560 нм. При внесенні рослинного екстракту фермент SOD каталізує дискомутацію супероксиду до пероксиду водню і кисню, забезпечуючи пропорційне зниження швидкості утворення формазану.

Для проведення аналізу готується реакційна суміш об'ємом 3 мл.

I. Підготовка робочих розчинів (екстракційний буфер) - натрій-фосфатний буфер, EDTA- Na₂, PVPP):

В основу натрій-фосфатного буферу 100 мл 50 мМ, зважити і розчинити 0,037 г EDTA- Na₂, додати 2 г полівінілполіпіролідину до 100 мл суміші (PVPP-необхідний для нейтралізації фенольних сполук банана);

II. Реагенти для аналізу:

1. Приготування розчину NBT (1мМ) – зважуємо на аналітичних вагах 0,088 г нітротетразолію синього і кількісно переносимо наважку в мірну колбу, додаємо 80 мл деіонізованої води, ретельно перемішуємо до повного розчинення і доводимо об'єм до 10 мл;

2. Приготування розчину L-метіоніну – 0,745 г метіоніну розчиняємо в 10 мл деіH₂O;

3. Приготування розчину ЕДТА-Na₂ – 0,372 г динатрієвої солі ЕДТА розчинити у 100 мл деіH₂O;

4. Приготування розчину рибофлавіну – зважуємо 0,0075 г рибофлавіну і розчиняємо в 100 мл деіH₂O. Після цього профільтруємо отриманий розчин через паперовий фільтр для видалення нерозчинених мікрочасток.

Також дуже важливо флакони з розчинами NBT та рибофлавіну обгорнути алюмінієвою фольгою для захисту від світла.

Приготування реакційної суміші згідно таблиці:

Таблиця 2.1.

Склад реакційної суміші [36]

Компоненти	Концентрація компонентів	Об'єми (мл)
Натрій-фосфатний буфер	50 мМ	2,35
ЕДТА- Na ₂	0,65 мМ	0,20
L-метіонін	10 мМ	0,30
NBT	33 мМ	0,10
Рибофлавін	0,0033 мМ	0,05
Загальний обсяг		3 мл

Середовище для аналізу:

- Холостий розчин (200 мкл екстракційного буфера + 3мл реакційної суміші (без світла);
- Контрольний розчин (200 мкл екстракційного буфера + 3мл реакційної суміші (під лампою);
- Дослідні зразки (у 3 пробірки до 150, 100 та 50 мкл екстракційного буфера додаємо 50, 100 та 150 мкл екстракту відповідно, щоб загальний об'єм = 200

мкл, а потім до всіх пробірок додаємо по 3 мл реакційної суміші); зберігаємо зразки в темряві.

Потім всі пробірки переносимо до звичайного штатива, що освітлений люмінісцентними лампами, протягом 10 хв.

Вимірювання та розрахунок здійснюється на спектрофотометрі на довжині хвилі 560 нм:

1. Встановлюємо прилад на 0 за допомогою холостої проби (Blank);
2. Вимірюємо оптичну щільність (A) контролю та дослідних зразків;
3. Розрахунок % інгібування

$$A = (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}} * 100\% \quad (2.1)$$

За одиницю активності SOD приймають кількість ферменту, що спричиняє 50% інгібування відновлення NBT. Результат перераховуємо на мг білка або г сирої маси тканини. [36]

Визначення активності каталази (CAT)

Каталаза забезпечує деградацію пероксиду водню, що утворився на попередньому етапі, безпосередньо до води на кисню. Цей фермент характеризується високою швидкістю обороту, і це важливий показник для нейтралізації викидів перекису водню у пероксисомах під час фотодихання, спричиненого закриттям продихів через стрес.

Метод базується на здатності пероксиду водню інтенсивно поглинати світло в ультрафіолетовій області спектра з максимумом при 240 нм. В міру розщеплення субстрату ферментом каталазою – оптична щільність реакційної суміші зменшується, а швидкість цього зменшення прямопропорційна активності ферменту в екстракті.

I. Підготовка робочих розчинів:

1. Екстракційний буфер – зважуємо 0,789 г Tris- HCl, розчиняємо у 100 мл деіонізованої води і доводимо рН до рівня 7,8, використовуючи 1N розчин КОН;

2. Додаємо стабілізатори (на 100 мл буфера) – 0,00293 г ЕДТА (0,1 мМ); 200 мкл Triton X-100 (0,2%); 0,01742 г фенолметансульфонілфторид PMSF (1 мМ); 0,031 г дитіотреїтол DTT (2 мМ);

3. Розчиняємо ці компоненти в 80 мл Tris-HCl буфера і доводимо об'єм до 100 мл цим же буфером;

II. Реагенти для аналізу: розчиняємо 0,012 г етилендіамінтетраоцтової кислоти у 100 мл натрій-фосфатного буфера і додаємо 8,58 мл 35% розчину H_2O_2 .

III. Спектрофотометричний аналіз (вимірювання проводяться у кварцових кюветах), встановлюємо довжину хвилі на 240 нм і готуємо реакційну суміш.

Таблиця 2.2

Склад розчину для вимірювання каталази [35]

Компонент	Холоста проба	Дослідна проба
Na-P буфер (з ЕДТА)	920 мкл	920 мкл
Екстракт ферменту	70 мкл	70 мкл
Дистильована вода	10 мкл	-
Пероксид водню (3%)	-	10 мкл

Вимірювання відбувається протягом 180 секунд з фіксацією падіння оптичної щільності, інтервал зчитування кожні 10 секунд, а зменшення абсорбції свідчить про розклад H_2O_2 під дією каталази.

Активність каталази розраховується на основі швидкості зменшення концентрації пероксиду водню:

$$CAT(нмоль/хв/г) = [\Delta A * V_{\text{заг}} / (\epsilon * d) \times 10^9] / (W * V_{\text{зразка}} / V_{\text{заг.зразка}}) / T = 918 * \Delta A / W, \quad (2.2)$$

де ΔA – зміна оптичної щільності, V – загальний об'єм реакційної системи, ϵ – коефіцієнт молярної екстинкції H_2O_2 , d – довжина оптичного шляху, $V_{\text{зразок}}$ –

об'єм доданого екстракту (зразка), V загальний зразок – загальний об'єм доданого розчину для екстракції, T – час реакції, W – маса наважки зразка, г.

1 одиниця САТ визначається як кількість ферменту, що розкладає 1 ммоль H_2O_2 за 1 хв в 1 мл реакційної суміші. [35]

Визначення активності пероксидази (POD)

Метод базується на здатності пероксидази розкладати пероксид водню шляхом окиснення косубстрату – гваяколу. В результаті реакції утворюється кольоровий продукт – тетрагваякол, який має оранжево-коричнє забарвлення і його інтенсивність накопичення продукту прямо пропорційна активності ферменту та фіксується спектрофотометрично при довжині хвилі 470 нм.

Хід аналізу:

1. Для контролю в кювету вносять $1,5\text{ см}^3$ буферного (фосфатного) розчину, $0,5\text{ см}^3$ розчину гваякола (182 мг гваякола розчинити в 25 см^3 дистильованої води), $0,5\text{ см}^3$ екстракту та $0,5\text{ см}^3$ дистильованої води;

2. У дослідну кювету спектрофотометра з робочою довжиною 10 мм вносять $0,5\text{ см}^3$ розчину гваяколу; $1,5\text{ см}^3$ буферного розчину, $0,5\text{ см}^3$ ферментної витяжки та $0,5\text{ см}^3$ розчину гідроген пероксиду.

З внесенням першої краплі гідроген пероксиду вмикаємо секундомір, перший вимір проводимо через 20 секунд, потім вимір ще здійснюється 5 разів через кожні 20 секунд. Оптична густина розчинів вимірюється при 470 нм.

Розрахунок у відносних одиницях на 1 г сирої маси:

$$A = ((D_2 - D_1) * V * V_2 * 60) / (t_2 - t_1) * m * V_1 \quad (2.3)$$

де, D_1 – оптична густина контрольного; D_2 – оптична густина дослідного розчину; t_1 і t_2 – час початку і кінця дослідження, с; m – маса наважки, г; V – загальний початковий об'єм витяжки, см^3 ; V_1 – об'єм, взятий для проведення реакції, см^3 ; V_2 – загальний об'єм рідини в кюветі, см^3 ; 60 – коефіцієнт переведення в хвилини.

Для остаточного результату беремо середнє арифметичне значення 3-х вимірювань, підрахованих до четвертого десяткового знаку. [6]

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Виконані дослідження базувалися на штучному створенні абіотичного стресу в контрольованих лабораторних умовах для детального визначення фізіолого-біохімічних механізмів адаптації рослин роду *Musa* та трансформації активності антиоксидантної системи за дії оксидативного стресу, а саме ферментів супероксиддисмутази (SOD), каталази (CAT) та пероксидази (POD) для плодів та паростків банана (*Musa acuminata*).

3.1. Вплив низькотемпературного стресу на стан ферментів

Як вже було вказано раніше, холодний стрес спричиняє найбільш руйнівну силу на стан всіх систем банана, адже це тропічна рослина і більшість сортів не пристосовані розвиватися при низьких температурах. Виконавши експеримент із застосуванням низькотемпературного стресу, я визначила як саме він впливає на антиоксидантну систему плодів банана і як за допомогою дії арахідонової кислоти можна підвищити стійкість до даного виду стресу. Вимірювання активності ферментів та візуальні зміни фіксувалися кожні 3 дні (36-й день останній).

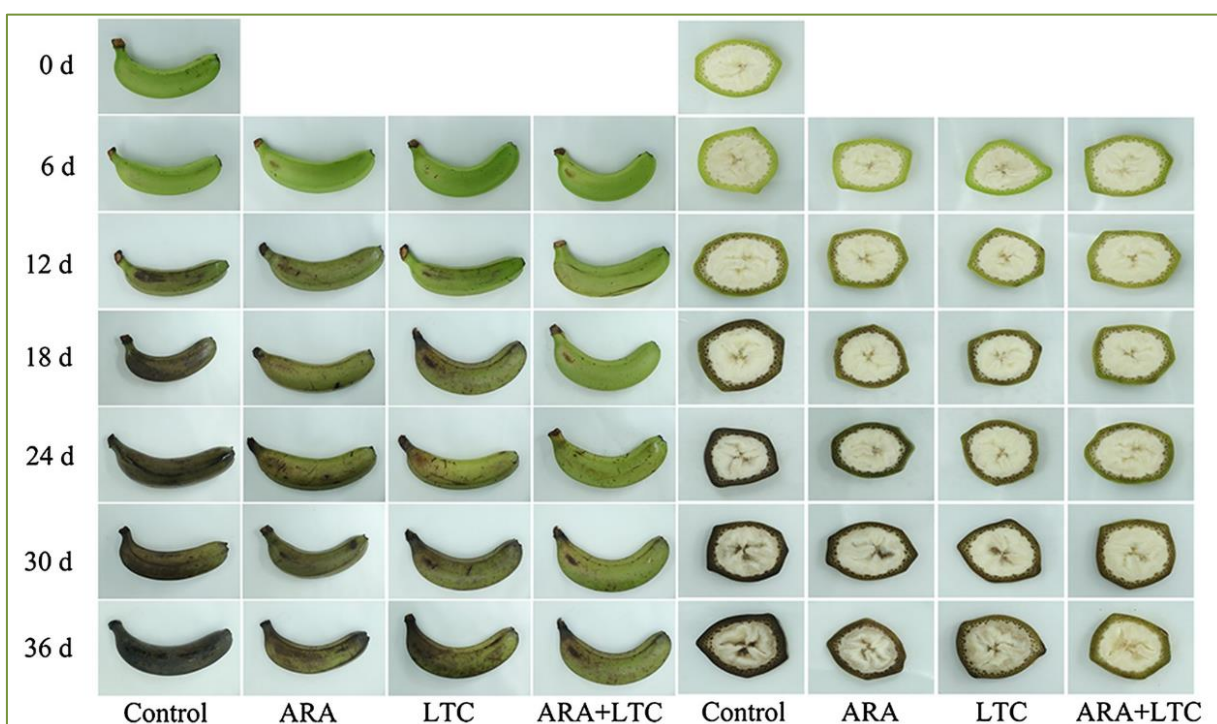


Рис.3.1. Візуальне порівняння наслідків холоду для плодів [38]

За результатами чотирьох дослідних груп, можна стверджувати, що в контрольна група має найбільш виражені ознаки пошкодження від холодового стресу, що включає потемніння шкірки та появу коричневих плям. Для групи обробленої арахідоною кислотою (кислота, яка діє як захисний механізм) та групи попереднього зберігання плодів в місцях з трохи нижчою оптимальною температурою, результат вийшов схожий, хоч на 36-й день більша половина плода почорніла, але результат все одно кращий, ніж в контролі. А от для останньої групи з ARA+LTC, показники зміни забарвлення майже не змінилися, лише мінімальна плямистість. Це підтверджує, що комбінована обробка – є найкращим способом для встановлення стійкості до впливу стресора.

Відповідно до методик, описаних у розділі 2, було виміряно активність ферментів та закономірність їх зміни, дані записано до таблиць 3.1 та 3.2 для контрольної групи та ARA+LTC групи відповідно.

Таблиця 3.1

Показники активності ферментів для контрольної групи

Контроль	День експерименту												
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36
SOD (U*g ⁻¹)	177 ± 0,02	198 ± 0,03	210 ± 0,03	221 ± 0,04	233 ± 0,05	241 ± 0,05	213 ± 0,04	207 ± 0,03	203 ± 0,03	187 ± 0,03	173 ± 0,02	136 ± 0,01	122 ± 0,01
CAT (U*g ⁻¹)	151 ± 0,04	155 ± 0,04	170 ± 0,05	161 ± 0,04	152 ± 0,04	139 ± 0,03	124 ± 0,03	113 ± 0,02	99 ± 0,02	87 ± 0,01	82 ± 0,01	71 ± 0,01	64 ± 0,01
POD (U*g ⁻¹)	574 ± 0,03	645 ± 0,04	658 ± 0,04	662 ± 0,05	650 ± 0,04	678 ± 0,05	591 ± 0,03	583 ± 0,03	520 ± 0,02	500 ± 0,02	474 ± 0,02	458 ± 0,01	400 ± 0,01

Таблиця 3.2

Показники активності ферментів для ARA+LTC групи

ARA+ LTC	День експерименту												
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36
SOD (U*g ⁻¹)	177 ± 0,01	218 ± 0,02	230 ± 0,03	247 ± 0,03	268 ± 0,04	280 ± 0,05	251 ± 0,03	235 ± 0,03	222 ± 0,02	214 ± 0,02	206 ± 0,02	194 ± 0,01	188 ± 0,01
CAT (U*g ⁻¹)	151 ± 0,02	235 ± 0,04	240 ± 0,05	231 ± 0,04	190 ± 0,03	176 ± 0,03	171 ± 0,03	166 ± 0,02	159 ± 0,02	150 ± 0,02	120 ± 0,01	104 ± 0,01	92 ± 0,01
POD (U*g ⁻¹)	574 ± 0,02	658 ± 0,03	693 ± 0,03	745 ± 0,04	774 ± 0,04	793 ± 0,05	769 ± 0,04	686 ± 0,03	640 ± 0,03	592 ± 0,02	524 ± 0,01	495 ± 0,01	471 ± 0,01

Результати досліджень показали, що активність супероксиддисмутази і пероксидази в контрольній та дослідній групі зростала протягом першої половини терміну зберігання і досягала максимуму на 15-й день експерименту (в контролі SOD і POD – $241 \pm 0,05$ та $678 \pm 0,05$ U*g⁻¹ відповідно, а в групі ARA+LTC – $280 \pm 0,05$ та $793 \pm 0,05$ U*g⁻¹). Після цього спостерігалось поступове зниження активності.

Щодо зростання захисного потенціалу плодів, то після обробки ARA+LTC, активність SOD на 15-й день підвищилась на 39 одиниць, а наприкінці терміну зберігання (36-й день) активність була на 54 % вищою порівняно з контролем.

% підвищення активності = (показник дослідної групи - показник контролю)/показник контролю*100 %

Активність пероксидази відобразила аналогічну тенденцію – максимальне значення після обробки збільшилось на 115 одиниць, а активність в останній день експерименту залишалась вищою на 17,75 % порівняно з контролем.

Активність каталази у контрольних плодах продемонструвала помірне зростання на початку, досягнувши максимуму на 6-й день, після чого стабільно знижувалась і завжди залишалась нижчою порівняно з активністю інших ферментів. В дослідній групі, активність стрімко зросла на 3-й день і свого максимального значення досягла вже на 6-й день ($240 \pm 0,05 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$), що в 1,4 рази більше порівняно з контролем, а в останній день експерименту активність була на 43,75 % більшою, ніж активність в цей день в контрольній групі.

Для візуального відображення зміни активності ферментів за дії холодового стресу в контрольній і дослідній групі, за табличними даними створено графіки.

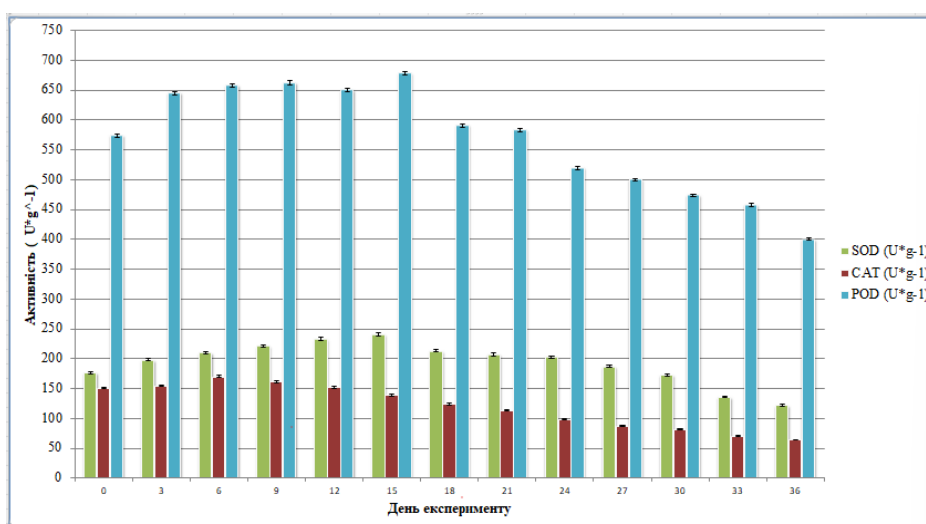


Рис.3.2. Гістограма зміни активності ферментів в контрольній

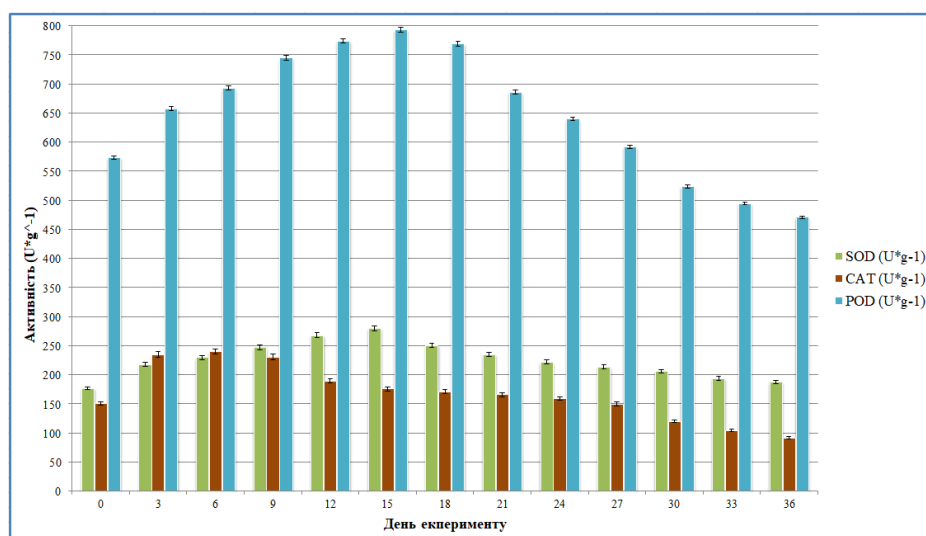


Рис.3.3. Гістограма зміни активності ферментів в дослідній групі

Для даного дослідження з моделюванням низькотемпературного стресу було доведено, що активність основних ферментів дійсно зростає у відповідь на стрес, а якщо застосовувати сигнальні речовини такі як арахідонова кислота, активація необхідних захисних білків буде відбуватися в масштабнішому значенні.

3.2. Результати впливу комбінованого стресу посухи та важких металів на ферменти

Важкий метал Cd^{2+} , як стресовий чинник, входить в групу найнебезпечніших токсинів, які рослина може поглинути з ґрунту. Посуха, як фактор стресу, також завдає шкоди для фізіологічного стану рослин. Але от комбінація цих двох стресів, може викликати надпотужну активацію захисної системи банану.

Щоб це перевірити, був виконаний експеримент з моделюванням комбінованого стресу для 6 паростків банану сорту «Dwarf Cavendish», який вирощувався на середовищі Мурасіге-Скуга. Для вже підрослих паростків, окремо для кожного в перший день експерименту було введено в середовище як стресовий фактор-просто Cd, PEG 1%, PEG 3%, Cd+PEG 1%, Cd+PEG 3% відповідно до методики в 2 розділі + контроль. Вимірювання активності ферментів супероксиддисмутази та пероксидази було виконано на 30 день експерименту. Це було зроблено для визначення розбалансування активності після деякого пристосування до несприятливих умов, а не швидко відповідь системи на стрес.

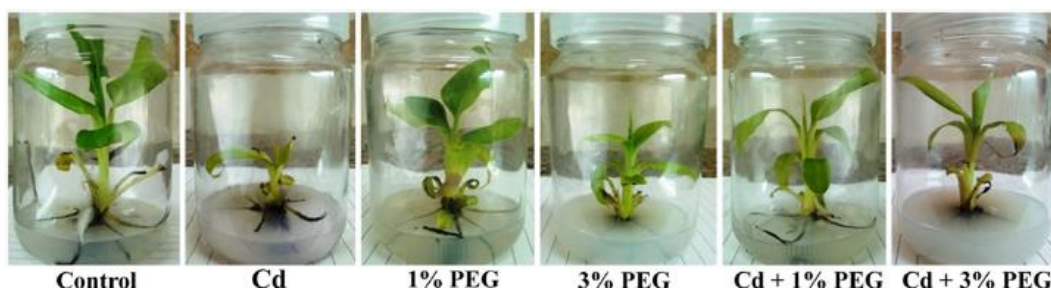


Рис.3.4. Реакція паростків банана на комбінований стрес [11]

Отримані показники активності на 30 день записані до таблиці.

Таблиця 3.3

Показники активності для POD і SOD в останній день експерименту

Експериментальна група	Контроль	Cd	PEG 1%	PEG 3%	Cd+PEG 1%	Cd+PEG 3%
POD ($U \cdot g^{-1}$)	$2,55 \pm 0,01$	$1,25 \pm 0,01$	$10,80 \pm 0,04$	$5,70 \pm 0,02$	$6,63 \pm 0,03$	$4,55 \pm 0,02$
SOD ($U \cdot g^{-1}$)	$0,150 \pm 0,02$	$0,060 \pm 0,01$	$0,210 \pm 0,04$	$0,162 \pm 0,03$	$0,090 \pm 0,01$	$0,120 \pm 0,02$

Відмінність в значеннях показників порівняно з першим експериментом пов'язана з різницею в об'єкті досліджуваного матеріалу: плоди банана мають високі показники (в сотнях) через те що значно довше формувалися і встигли ввібрати в себе значно більшу кількість поживних елементів та насинтезувати для себе ферменти антиоксидантної системи на відмінну від молодих паростків, які містять ці ферменти в значно менших кількостях.

Але навіть за такими показниками можна спостерігати за тим, що вплив кадмію, як окремого чинника, найбільше пригнічує загальну активність обох ферментів майже в 2 рази ($1,25 \pm 0,01 U \cdot g^{-1}$ та $0,060 \pm 0,01 U \cdot g^{-1}$) порівняно з контролем.

Найвища активність ферментів визначена в групі з застосуванням PEG 1%, це зумовлено тим це група з найбільш помірним стресом, яка лише імітує початкову стадію посухи. Рослина сприймає це як сигнал тривоги і має непошкоджену захисну систему для максимальної мобілізації всіх ресурсів і швидкої реакції на знешкодження АФК (показники зросли на 40 і 325,5 % для SOD і POD відповідно). А от при збільшенні концентрації PEG до 3%, стрес почав виснажувати рослину і структуру її білків, через що швидкість ферментів була значно знижена.

В групі дослідного паростка з комбінованою обробкою Cd+PEG 1% було доведено як один стрес може впливати на активність іншого. Хоч в цьому випадку і був присутній Cd, але активність POD ($6,63 \pm 0,03 U \cdot g^{-1}$) вища в 2,6

разів порівняно з контролем ($2,55 \pm 0,01 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$). Така ситуація наочно демонструє як помірна посуха починає стимулювати ферментативну систему в стан високої активності для нейтралізації стресу від дії важкого металу.

Водночас з цим можна відзначити, що активність SOD важче відновлюється після дії кадмію, навіть за умови додавання PEG ($0,090 \pm 0,01 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$), якщо порівнювати з контролем $0,150 \pm 0,02 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$. Це є найпростішим способом пояснення, як діє процес «розбалансування» ферментативних ланок.

Даний експеримент показує, що Cd є прямим інгібітором для супероксиддисмутази, адже через структурно-функціональну залежність від іонів Zn або Cu в активному центрі SOD, заміщення їх на йони Cd робить фермент майже нефункціональним і неуможливорює активності SOD відновитися навіть до рівня контролю. Одночасно з цим пероксидаза є більш мобільною ланкою захисту, яка реагує на окислювальний стрес від дії кадмію і намагається компенсувати низьку активність SOD, посилюючи вироблення клітиною POD у надлишку для детоксикації АФК та перекису водню (активність зросла на 160%).

В останній дослідній групі з Cd+PEG 3%, спостерігається зміна вектора активності – SOD починає трохи відновлюватися, але все ще нижче контролю, а POD – знижуватися, але все одно активність на 78,43% вища за контроль. Це є результатом підвищення концентрації осмотичного тиску в середовищі і захисною дією в рослині, яка починає закривати продихи для переходу в режим «економії». Знижений водний потенціал означає зниження рівня активності пасивного транспорту йонів Cd від коренів до пагона і листя, а отже зменшення руйнівного процесу на SOD. А для пероксидази вже немає необхідності активувати свої ресурси в такому сильному надлишку.

За графіком одночасної дії ферментів SOD і POD для всіх дослідних груп, середовище із концентрацією PEG 1% є оптимальною концентрацією для активації адаптаційного потенціалу банану даного сорту, а різниця в активності ферментів є поясненням основної теми написання диплому – поняття розбалансування антиоксидантної активності.

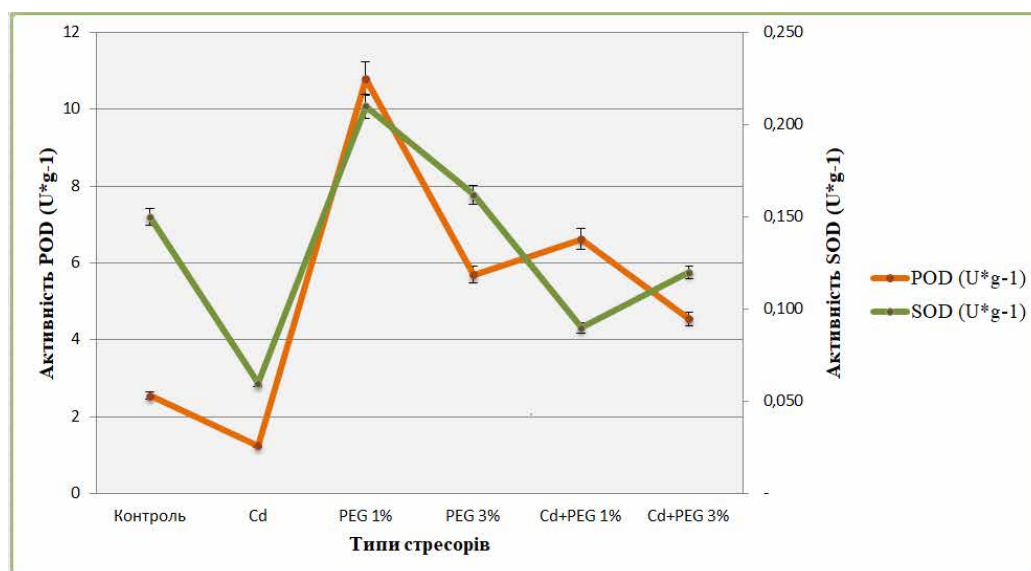


Рис. 3.5. Графік активності ферментів в різних групах

3.3. Результати дії механічного пошкодження на антиоксидантну систему

Третій експеримент базувався на імітації механічного пошкодження для плодів банана досліджуваного сорту для визначення активності ферментів антиоксидантної системи при найчастішому стресі, який виникає після збирання врожаю та транспортування плодів. Для цього, згідно з методикою моделювання механічного стресу та методами вимірювання активності ферментів з 2 розділу, протягом 16 днів експерименту для контрольної та дослідної групи плодів банана фіксувалися показники активності SOD, CAT, POD кожні 2 дні. Зберігання плодів відбувалось за нормальних умов : 25 °C та вологості 80%.



Рис.3.6. Зовнішній стан банана після проколів в різні дні експерименту

Отримані показники були внесені в таблиці загальної активності ферментів в контролі та дослідної групи.

Таблиця 3.4

Показники активності ферментів в контролі

Контроль	День експерименту								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
SOD (U*g ⁻¹)	118± 0,01	100± 0,01	139± 0,02	137± 0,02	139± 0,02	121± 0,02	177± 0,03	180± 0,04	182± 0,04
CAT (U*g ⁻¹)	44± 0,01	30± 0,01	61± 0,02	68± 0,02	39± 0,01	100± 0,03	150± 0,04	157± 0,05	64± 0,02
POD (U*g ⁻¹)	3± 0,02	1± 0,01	2± 0,02	1± 0,01	1,5± 0,01	2± 0,02	5± 0,03	8± 0,03	26± 0,04

Коливання активності ферментів антиоксидантної системи в контрольній групі, що не зазнала пошкоджень, відображають нормальну фізіологічну реакцію плоду на процес підтримки метаболічного гомеостазу під час дозрівання. Значення показників корелюють з активністю рівня утворення АФК та його спаду. А для дослідної групи, активність ферментів має здебільшого тенденцію активного поступового зростання у відповідь на стрес.

Таблиця 3.5

Показники активності ферментів при механічному стресі

Дослідна група	День експерименту								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
SOD (U*g ⁻¹)	122± 0,01	131± 0,01	143± 0,021	159± 0,02	164± 0,02	181± 0,02	220± 0,03	255± 0,04	270± 0,05
CAT (U*g ⁻¹)	62± 0,01	80± 0,01	88± 0,01	97± 0,02	99± 0,02	130± 0,02	163± 0,03	179± 0,04	200± 0,05
POD (U*g ⁻¹)	5± 0,02	4± 0,01	4,5± 0,01	4± 0,01	5± 0,02	6± 0,02	8± 0,02	15± 0,03	35± 0,04

Згідно зі значеннями в таблиці, у пошкоджених плодах активність всіх ферментів була вищою, ніж у контролі і це вказує на посилену спробу бананового плоду таким чином компенсувати стрес.

Для супероксиддисмутази на 16-й день зберігання, активність при механічному пошкодженні зростає на 48,35% порівняно з контролем в цей же день, каталаза зросла на 212,5 % порівняно з контролем, що свідчить про дуже активну реакцію в розкладанні пероксиду водню, утвореним внаслідок дії радикалів. Через високу ефективність дії SOD і CAT, як перших основних ліній захисту, антиоксидантна система не потребує високого рівня активності POD, але цей фермент, разом з іншими має динаміку зростання до 16-го дня експерименту (на 34, 62%).

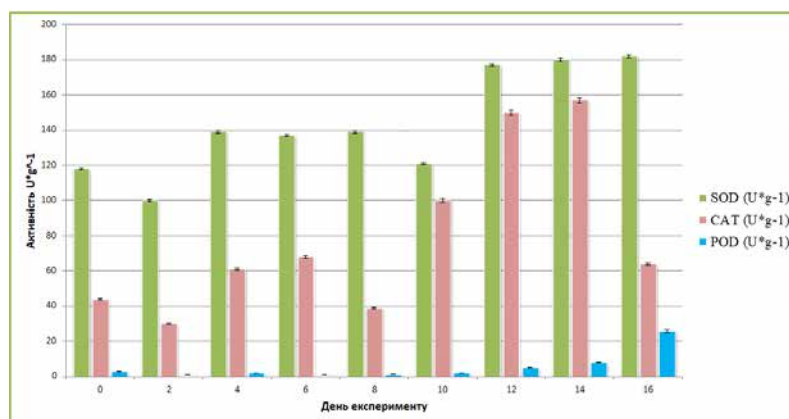


Рис 3.7. Графік активності ферментів в контролі

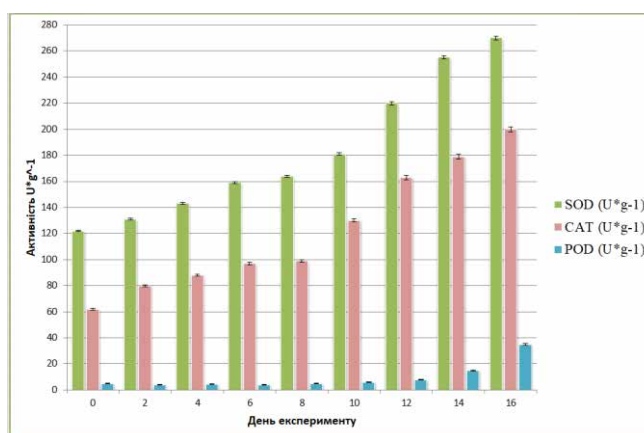


Рис 3.8. Графік активності ферментів пошкоджених плодів

За графіками, можна чітко спостерігати як поступово та інтенсивно активується захисна система банану при дії механічного пошкодження для запобігання процесу розбалансування.

ВИСНОВКИ

1. Під дією низькотемпературного стресу для плодів банана, активність ферментів зростала в першій половині терміну проведення експерименту, після цього поступово падала через виснаження захисної системи. Така динаміка ферментів визначається межею фізіологічної адаптації та має двофазний характер (спочатку етап зростання активності при позитивній кореляції між тривалістю холодового впливу та відповіддю системи до етапу спадання із негативною кореляцією).

2. Для посухового стресу в комбінації з кадмієвим забрудненням відбувається розбалансування активності ферментів антиоксидантної системи банану, де пероксидаза намагається компенсувати низьку активність SOD і САТ, які є першою лінією захисту при дії АФК, підвищуючи активність в декілька разів порівняно з контролем для загального захисту, а також для ущільнення клітинних стінок, щоб запобігти втрати вологи за дії посухи.

3. При механічному пошкодженні антиоксидантна система відображає послідовне і закономірне зростання активності всіх ферментів до останнього дня експерименту, що свідчить про накопичувальний характер антиоксидантного захисту, але це супроводжується частковою деградацією клітинних структур.

4. Вивчення процесів розбалансування активності ферментів допомагає контролювати якість, економічні витрати та збільшувати термін зберігання плодів при застосуванні відповідних біотехнологічних прийомів при створенні генетично модифікованих і селекціонованих сортів, які здатні до стійкості і активного плодоношення при екстремальних стресових умовах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abdulfatah H. F. Non-Enzymatic Antioxidants in Stressed Plants: A Review. Journal of University of Anbar for Pure Science. 2023. Vol. 16, iss. 2. P. 25–37. DOI: <https://doi.org/10.37652/juaps.2022.17643>
2. Ali M. M. [et al.] Biotechnological advances in combating Fusarium wilt of banana: from pathogen biology to sustainable disease management. Horticultural Plant Journal. 2025. Vol. 11, iss. 6. Art. 101140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2025.08.017>
3. Anwar S. [et al.] Exploring Therapeutic Potential of Catalase: Strategies in Disease Prevention and Management. Biomolecules. 2024. Vol. 14, iss. 6. Art. 697. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom14060697>
4. Baker A. [et al.] Catalase: A critical node in the regulation of cell fate. Free Radical Biology and Medicine. 2023. Vol. 198. P. 11–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.02.006>
5. Balajee V. The Antioxidant Potential of *Musa Acuminata* and Their Therapeutic Applications - A Systematic Review and Meta Analysis. Journal of Chemical Health Risks. 2025. Vol. 15, no. 5. P. 1831—1841. URL: <https://www.jchr.org/index.php/JCHR/article/view/10229>
6. Biological features and chemical composition of banana / Dmytro Motornyi Tavria State Agrotechnological University: website
URL: https://elib.tsatu.edu.ua/dep/ate/tpzpsg_1/page21.html (дата звернення: 03.05.2026)
7. Birben E. [et al.] Oxidative Stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organization Journal. 2012. Vol. 5, iss. 1. P. 9–19. DOI: <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
8. Chidambaram S., Anand N., Varma S. Superoxide dismutase and neurological disorders. IBRO Neuroscience Reports. 2024. Vol. 16. P. 373–394. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2023.11.007>

9. Corpas F. J., González-Gordo S., Palma J. M. Ascorbate peroxidase in fruits and modulation of its activity by reactive species. *Journal of Experimental Botany*. 2024. Vol. 75, iss. 9. P. 2716–2732. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erae092>
10. Dumanović J. [et al.] The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>
11. El-Mahdy M. T., Abdel-Wahab D. A., Youssef M. *In vitro* morpho-physiological performance and DNA stability of banana under cadmium and drought stresses. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2021. Vol. 57. P. 460–469. URL: <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10142-4>
12. Gaikwad O. S. [et al.] A Review On Musa Plant. *International Journal of Novel Research and Development*. 2023. Vol. 8, iss. 12. P. b149–b156. URL: <https://www.ijnrd.org/papers/IJNRD2312133.pdf>
13. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol*. 2020. Vol. 94. P. 651–715. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
14. Hadwan M. H. [et al.] An improved method for measuring catalase activity in biological samples. *Biology Methods and Protocols*. 2024. Vol. 9, iss. 1. Art. bpae015. DOI: <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpae015>
15. Hasanuzzaman M., Fujita M. Plant Oxidative Stress: Biology, Physiology and Mitigation. *Plants*. 2022. Vol. 11, iss. 9. Art. 1185. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11091185>
16. Huchzermeyer B. [et al.] Metabolic Pathway of Natural Antioxidants, Antioxidant Enzymes and ROS Providence. *Antioxidants*. 2022. Vol. 11, iss. 4. Art. 761. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11040761>
17. Jiang B. [et al.] Properties and Applications of Plant Peroxidases. *Journal of Biochemical Technology*. 2024. Vol. 15, iss. 4. P. 3–8. DOI: <https://doi.org/10.51847/6C0QKTK3Na>
18. Karamura D. [et al.] General Plant Morphology of Musa. *Banana Breeding: Progress and Challenges* /CRC Press, 2011. P. 1–20.

URL:https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781439800188_A23982697/preview-9781439800188_A23982697.pdf

19. Kumar N. [et al.] A Comprehensive Review on Phytochemical, Nutritional, and Therapeutic Importance of *Musa acuminata*. International Journal of Current Research and Review. 2021. Vol. 13, no. 09. P. 114–124. DOI: <https://doi.org/10.31782/ijcrr.2021.13901>

20. Kumar P. S. [et al.] Comparing physico-chemical characteristics, antioxidant properties, glycemic response, and volatile profiles of eleven banana varieties. International Journal of Food Science & Technology. 2023. Vol. 58, iss. 6. P. 3173–3186. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.16418>

21. Lau S.-E. [et al.] Drought Stress Alters Photosynthetic and Carbohydrate-related Proteins in Leaves of Banana. Research Square. 2023. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2401950/v1>

22. Li L. [et al.] Responses of Phospholipase D and Antioxidant System to Mechanical Wounding in Postharvest Banana Fruits. Journal of Food Quality. 2017. Vol. 2017. Art. 1951563. URL: <https://doi.org/10.1155/2017/1951563>

23. Li Y. [et al.] Synchronized Efficacy and Mechanism of Alkaline Fertilizer and Biocontrol Fungi for *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4. Journal of Fungi. 2022. Vol. 8, iss. 3. Art. 261. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof8030261>

24. Liu J. [et al.] Exogenous Melatonin Enhances Cold Resistance by Improving Antioxidant Defense and Cold-Responsive Genes' Expression in Banana. Horticulturae. 2022. Vol. 8, iss. 3. Art. 260. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030260>

25. Liu K. [et al.] Metabolomic differences between resistant and susceptible banana cultivars and their potential application for *Fusarium* Wilt TR4 control. Physiological and Molecular Plant Pathology. 2026. Art. 103226. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2026.103226>

26. *Musa acuminata* (Banana, Banana Plant, Dessert Banana, Edible Banana, *Musa Paradisiaca*, Plantain) / North Carolina Extension Gardener Plant Toolbox.

URL: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/musa-acuminata/> (дата звернення: 03.05.2026)

27. *Musa acuminata* 'Dwarf Cavendish' (Banana) / Gardenia.net: website. URL: <https://www.gardenia.net/plant/musa-acuminata-dwarf-cavendish-banana> (дата звернення: 03.05.2026)

28. *Musa acuminata*. Campus Arboretum : website / University of Arizona. URL: <https://apps.cals.arizona.edu/arboretum/taxon.aspx?id=975> (дата звернення: 03.05.2026)

29. *Musa acuminata*. Missouri Botanical Garden : website. URL: <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?kempercode=a529> (дата звернення: 03.05.2026)

30. Nansamba M. [et al.] Breeding banana (*Musa spp.*) for drought tolerance: A review. Plant Breeding. 2020. Vol. 139, iss. 4. P. 685–696. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbr.12812>

31. Prenzler P. D., Ryan D., Robards K. Introduction to Basic Principles of Antioxidant Activity. Handbook of Antioxidant Methodology. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2021. P. 1–62. DOI: <https://doi.org/10.1039/9781839165337-00001>

32. Qin L. [et al.] Discovery of gene regulation mechanisms associated with uniconazole-induced cold tolerance in banana using integrated transcriptome and metabolome analysis. BMC Plant Biology. 2024. Vol. 24. Art. 342. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05027-2>

33. Rajput V. D. [et al.] Recent Developments in Enzymatic Antioxidant Defence Mechanism in Plants with Special Reference to Abiotic Stress. Biology. 2021. Vol. 10, iss. 4. Art. 267. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10040267>

34. Santos A. S. [et al.] Water stress in *Musa spp.*: A systematic review. PLoS ONE. 2018. Vol. 13, iss. 12. Art. e0208052. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208052>

35. Sekmen A. H., Turkan I. Catalase Assay. Prometheus Wiki : website. URL: <https://prometheusprotocols.net/function/tissue-chemistry/primary-metabolites/catalase-assay/> (дата звернення: 03.05.2026)

36. Sekmen A. H., Turkan I. Superoxide Dismutase Assay. Prometheus Wiki : website. URL: <https://prometheusprotocols.net/function/tissue-chemistry/primary-metabolites/superoxide-dismutase-assay/> (дата звернення: 03.05.2026)

37. Sun W., Shahrajabian M. H., Soleymani A. The Roles of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR)-Based Biostimulants for Agricultural Production Systems. *Plants*. 2024. Vol. 13, iss. 5. Art. 613.

DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13050613>

38. Wan C. [et al.] Arachidonic acid treatment combined with low temperature conditioning mitigates chilling injury in cold-stored banana fruit. *International Journal of Food Science & Technology*. 2022. Vol. 57, no. 1. P. 210—223. URL: <https://doi.org/10.1111/ijfs.15403>

39. Wang A. [et al.] Mechanisms of Chitosan Nanoparticles in the Regulation of Cold Stress Resistance in Banana Plants. *Nanomaterials*. 2021. Vol. 11, no. 10. Art. 2670. URL: <https://doi.org/10.3390/nano11102670>

40. Wang M. [et al.] Effects of different mechanical injury treatments on the metabolism of reactive oxygen species in banana peel. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*. 2022. Vol. 38, iss. 16. P. 284–292. DOI: <https://doi.org/10.11975/j.issn.1002-6819.2022.16.031>

41. Wei J. [et al.] Physiological Analysis and Transcriptome Sequencing Reveal the Effects of Salt Stress on Banana (*Musa acuminata* cv. BD) Leaf. *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13. Art. 822838.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.822838>

42. Xiao L. [et al.] Methionine Sulfoxide Reductase B Regulates the Activity of Ascorbate Peroxidase of Banana Fruit. *Antioxidants*. 2021. Vol. 10, iss. 2. Art. 310. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10020310>

43. Zhanassova K. [et al.] ROS status and antioxidant enzyme activities in response to combined temperature and drought stresses in barley. *Acta Physiologiae*

Plantarum. 2021. Vol. 43, iss. 8. Art. 114. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03281-7>

44. Zhang B. [et al.] A sorghum ascorbate peroxidase with four binding sites has activity against ascorbate and phenylpropanoids. *Plant Physiology*. 2023. Vol. 192, iss. 1. P. 102–118. DOI: <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac604>

45. Zhang B. [et al.] Activity of Cytosolic Ascorbate Peroxidase (APX) from *Panicum virgatum* against Ascorbate and Phenylpropanoids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, iss. 2. Art. 1778. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24021778>

46. Zhang Y. [et al.] Plants' Response to Abiotic Stress: Mechanisms and Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, iss. 13. Art. 10915. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241310915>

47. Zheng M. [et al.] The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. *Antioxidants*. 2023. Vol. 12, iss. 9. Art. 1675. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12091675>