

УДК 577.175.1

Е.Г. Артемук¹, О.В. Корзюк², А.А. Мариневич³¹канд. биол. наук, доц. каф. химии*Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина,
зав. сектором качества кормов лаборатории биохимии**Полесского аграрно-экологического института НАН Беларуси*²старший преподаватель каф. химии*Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина,*³магистрант каф. химии*Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина**e-mail: chem@brsu.brest.by*

РОСТРЕГУЛИРУЮЩЕЕ И АНТИСТРЕССОВОЕ ДЕЙСТВИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА БОБОВЫЕ КУЛЬТУРЫ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА

Изучено влияние brassinosteroidов (гомобрассинолида и эпикастостерона) на рост люпина узколистного и гороха посевного в условиях воздействия ионов свинца. Показано, что гомобрассинолид и эпикастостерон обладают антистрессовым действием в условиях токсического действия свинца на бобовые культуры, что выражается в снижении активности ферментов антиоксидантной системы. Сделан вывод, что изменения биохимических процессов в клетках, происходящие под влиянием ионов свинца, в определенной степени могут быть нивелированы действием brassinosteroidов.

Введение

К настоящему времени накоплен большой объем информации о фитотоксическом действии ионов свинца. В связи с широким распространением ионов свинца в результате естественных природных процессов и антропогенной деятельности актуален поиск средств, уменьшающих как негативное действие свинца на рост культурных растений, так и его накопление в растениеводческой продукции. Следует отметить значительный рост в последние годы количества публикаций, в которых обсуждается возможность модификации действия свинца на культурные растения при применении регуляторов роста, в частности, brassinosteroidов.

Брассиностероиды – это гормоны растений, играющие важную роль в регуляции роста, развития и ряда ключевых физиологических функций. Брассиностероиды проявляют свое биологическое действие в очень низких концентрациях. Регуляторная роль brassinosteroidов проявляется в растениях в стимуляции процессов роста, интенсивности фотосинтеза, изменении белкового метаболизма, поступления ионов и многих других сторон обмена веществ. Открытие у brassinosteroidов антистрессовых свойств к абиотическим факторам (высоким и низким температурам, засухе, засолению и действию тяжелых металлов) служит основанием для расширения сфер их применения [1].

Основные функции в регуляторной деятельности клетки выполняют ферменты антиоксидантной защиты (пероксидаза и каталаза), обеспечивающие нормальный ход окислительных процессов при различного рода неблагоприятных воздействиях. Одно из проявлений защитных реакций растений в условиях стресс-факторов – возрастание активности пероксидазы и каталазы. Обнаружение способности brassinosteroidов понижать активность антиоксидантных ферментов может быть использовано для разработки способа повышения устойчивости культурных растений к стресс-факторам [2].

Целью данной работы является изучение влияния brassinosteroidов (гомобрассинолида и эпикастостерона) на рост и антистрессовую устойчивость растений бобовых культур в условиях воздействия ионов свинца.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования были выбраны бобовые культуры – люпин узколистный сорта «Першацвет» и горох посевной сорта «Стартер».

Для оценки влияния брассиностероидов (эпикастостерона и гомобрассинолида) на рост растений и активность ферментов (каталазы и пероксидазы) у люпина узколистного в условиях воздействия ионов свинца были использованы следующие варианты опыта:

- 1) дистиллированная вода (контроль);
- 2) эпикастостерон с концентрацией $10^{-6}\%$;
- 3) гомобрассинолид с концентрацией $10^{-6}\%$;
- 4) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с пороговой концентрацией 10^{-4} М;
- 5) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией 10^{-4} М + эпикастостерон с концентрацией $10^{-6}\%$;
- 6) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией 10^{-4} М + гомобрассинолид с концентрацией $10^{-6}\%$.

Для оценки влияния брассиностероидов (эпикастостерона и гомобрассинолида) на рост растений и активность ферментов (каталазы и пероксидазы) у гороха посевного в условиях воздействия ионов свинца были использованы следующие варианты опыта:

- 1) дистиллированная вода (контроль);
- 2) эпикастостерон с концентрацией $10^{-7}\%$;
- 3) гомобрассинолид с концентрацией $10^{-7}\%$;
- 4) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с пороговой концентрацией 10^{-4} М;
- 5) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией 10^{-4} М + эпикастостерон с концентрацией $10^{-7}\%$;
- 6) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ с концентрацией 10^{-4} М + гомобрассинолид с концентрацией $10^{-7}\%$.

На 10-е сутки было проведено исследование активности ферментов каталазы и пероксидазы в корешках и побегах проростков люпина и гороха использованных вариантов опыта. Определение активности пероксидазы в корешках и побегах проростков проводили по методу А.Н. Бояркина [3], основанному на определении скорости реакции окисления бензидина под действием пероксидазы, содержащейся в растениях, до образования продукта окисления синего цвета определенной концентрации.

Определение активности каталазы в корешках и побегах исследуемых растений проводили по методу М.А. Королюк [4], основанному на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что при использовании свинца в концентрации 10^{-4} М наблюдалось ингибирование роста корешков и побегов у растений люпина узколистного. Длина корешков уменьшалась на 34,8 %, а побегов – на 19,1 % (таблица 1). Соответственно, наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов.

При добавлении в среду с ионами свинца гомобрассинолида в концентрации $10^{-6}\%$ длина корешков и побегов у растений люпина узколистного увеличивалась на 23,7 и 9,5 % соответственно. При добавлении в среду с ионами свинца эпикастостерона в концентрации $10^{-6}\%$ длина корешков и побегов у растений люпина узколистного также увеличивалась на 8,3 и 1,8 % соответственно. Таким образом, гомобрассинолид в большей степени повышал устойчивость растений люпина узколистного при воздействии ионов свинца.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что ионы свинца в концентрации 10^{-4} М приводили к увеличению активности пероксидазы в проростках люпина узколистного: корни на 30,9 %, а побеги – 46,3 % (таблица 2). Присутствие эпикастостерона в концентрации $10^{-6}\%$ в среде, содержащей ионы свинца, приводило к снижению активности пероксидазы в корнях на 10,8 %, а в побегах – на 26,3 %. Присутствие гомо-

брасинолида в концентрации $10^{-6}\%$ в среде, содержащей ионы свинца, приводило к снижению активности пероксидазы в корнях на 1,8 %, а в побегах – на 33,6 %.

Таблица 1. – Влияние гомобрасинолида (ГБ) и эпикастостерона (ЭК) на длину корней, побегов и массу растений люпина узколистного сорта «Першацвет» при воздействии ионов свинца (10-е сутки)

Вариант опыта	Корни		Побеги	
	длина	масса (20 шт.)	длина	масса (20 шт.)
Контроль	$50,72 \pm 0,84$	$2,82 \pm 0,26$	$101,68 \pm 2,02$	$7,00 \pm 0,43$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$33,08 \pm 1,45$	$2,07 \pm 0,08$	$82,28 \pm 2,52$	$6,34 \pm 0,22$
ГБ, $10^{-6}\%$	$55,37 \pm 1,31$	$3,48 \pm 0,18$	$108,97 \pm 2,24$	$7,51 \pm 0,34$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, $10^{-6}\%$	$40,93 \pm 1,46$	$2,49 \pm 0,18$	$90,08 \pm 3,20$	$7,13 \pm 0,20$
ЭК, $10^{-6}\%$	$54,02 \pm 0,93$	$3,49 \pm 0,20$	$111,68 \pm 2,49$	$7,47 \pm 0,31$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, $10^{-6}\%$	$35,83 \pm 1,02$	$2,46 \pm 0,04$	$83,75 \pm 2,45$	$7,03 \pm 0,15$

Таблица 2. – Активность пероксидазы в проростках люпина узколистного сорта «Першацвет» в различных вариантах опыта

Вариант опыта	Активность пероксидазы, у.е./ г сырой массы	
	корни	побеги
Контроль	$2,13 \pm 0,06$	$1,77 \pm 0,05$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$2,79 \pm 0,02$	$2,59 \pm 0,16$
ГБ, $10^{-6}\%$	$3,19 \pm 0,01$	$1,61 \pm 0,03$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, $10^{-6}\%$	$2,74 \pm 0,10$	$1,72 \pm 0,15$
ЭК, $10^{-6}\%$	$2,32 \pm 0,08$	$2,06 \pm 0,03$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, $10^{-6}\%$	$2,49 \pm 0,05$	$1,91 \pm 0,01$

Исследование активности каталазы в проростках люпина узколистного показало, что ионы свинца приводят к увеличению активности каталазы в корнях (на 34,7 %) и побегах (на 9,4 %) по сравнению с контролем (таблица 3).

Таблица 3. – Активность каталазы в проростках люпина узколистного сорта «Першацвет» в различных вариантах опыта

Вариант опыта	Активность каталазы, мкат/л	
	корни	побеги
Контроль	$325,0 \pm 1,54$	$823,18 \pm 1,77$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$437,92 \pm 1,73$	$900,74 \pm 1,05$
ГБ, $10^{-6}\%$	$433,79 \pm 9,01$	$823,31 \pm 2,60$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, $10^{-6}\%$	$401,95 \pm 6,42$	$860,47 \pm 0,77$
ЭК, $10^{-6}\%$	$444,0 \pm 3,47$	$822,42 \pm 1,83$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, $10^{-6}\%$	$482,63 \pm 4,24$	$810,88 \pm 7,76$

Присутствие гомобрасинолида (в концентрации $10^{-6}\%$) в среде, содержащей ионы свинца, приводило к снижению активности каталазы в корнях на 8,2 %, в побегах – на 4,5 %. Присутствие эпикастостерона в концентрации $10^{-6}\%$ в среде, содержащей ионы свинца, приводило к снижению активности каталазы только в побегах на 9,9 % (таблица 3).

У гороха посевного при использовании свинца в концентрации 10^{-4} М наблюдалось более сильное ингибирование роста корешков и побегов. Длина корешков уменьшалась на 46,9 %, а побегов – на 46,6 % (таблица 4). Соответственно, наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов. Добавление в среду с ионами свинца гомобрасинолида в концентрации $10^{-7}\%$ приводило к увеличению длины корней и по-

бегов, а также массы. Так, длина корешков и побегов у растений гороха увеличивалась соответственно на 3,5 и 15,8 %. При добавлении в среду с ионами свинца эпикастостерона в концентрации $10^{-7}\%$ длина корешков и побегов у растений гороха посевного также увеличивалась на 2,1 и 9,6 % соответственно.

Таблица 4. – Влияние гомобрассинолида (ГБ) и эпикастостерона (ЭК) на длину корней, побегов и массу растений гороха посевного сорта «Стартер» при воздействии ионов свинца (10-е сутки)

Вариант опыта	Корни		Побеги	
	длина	масса (20 шт)	длина	масса (20 шт)
Контроль	$54,20 \pm 1,62$	$2,23 \pm 0,14$	$28,63 \pm 1,25$	$1,74 \pm 0,22$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$28,75 \pm 0,75$	$1,13 \pm 0,05$	$15,28 \pm 0,52$	$1,22 \pm 0,06$
ГБ, $10^{-7}\%$	$55,88 \pm 2,03$	$3,13 \pm 0,04$	$29,23 \pm 1,09$	$1,96 \pm 0,18$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, $10^{-7}\%$	$29,75 \pm 0,75$	$1,14 \pm 0,02$	$17,70 \pm 0,80$	$1,34 \pm 0,05$
ЭК, $10^{-7}\%$	$62,55 \pm 1,30$	$2,61 \pm 0,16$	$30,50 \pm 1,37$	$1,85 \pm 0,14$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, $10^{-7}\%$	$29,35 \pm 0,69$	$1,15 \pm 0,02$	$16,75 \pm 0,78$	$1,38 \pm 0,04$

В опытах с горохом посевным ионы свинца в концентрации 10^{-4} М также приводили к увеличению активности пероксидазы. Так, активность пероксидазы в корнях увеличивалась на 35,5, а в побегах – на 138 % (таблица 5). Присутствие гомобрассинолида в концентрации $10^{-7}\%$ в среде, содержащей ионы свинца, приводило к снижению активности пероксидазы в корнях на 27,0, а в побегах – на 56,1 %. Присутствие эпикастостерона в концентрации $10^{-7}\%$ в среде, содержащей ионы свинца, приводило к снижению активности пероксидазы в корнях на 17,6, а в побегах – на 48,6 %.

Таблица 5. – Активность пероксидазы в проростках гороха посевного сорта «Стартер» в различных вариантах опыта

Вариант опыта	Активность пероксидазы, у.е./ г сырой массы	
	корни	побеги
Контроль	$17,77 \pm 0,62$	$5,82 \pm 0,24$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$24,08 \pm 0,69$	$13,88 \pm 0,45$
ГБ, $10^{-7}\%$	$26,44 \pm 0,68$	$6,75 \pm 0,18$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, $10^{-7}\%$	$17,58 \pm 0,73$	$6,10 \pm 0,33$
ЭК, $10^{-7}\%$	$27,47 \pm 0,17$	$9,34 \pm 0,06$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, $10^{-7}\%$	$19,85 \pm 0,36$	$7,13 \pm 0,05$

Исследование активности каталазы в проростках гороха посевного показало, что ионы свинца приводят к увеличению активности каталазы в корнях на 3,5 %, а присутствие гомобрассинолида в среде с ионами свинца приводит к снижению активности каталазы в корнях на 0,9 %, присутствие эпикастостерона снижает активность этого фермента в корнях на 6,3 % (таблица 6).

Таблица 6. – Активность каталазы в проростках гороха посевного сорта «Стартер» в различных вариантах опыта

Вариант опыта	Активность каталазы, мкат/л	
	корни	побеги
Контроль	$741,79 \pm 4,16$	$845,24 \pm 2,43$
Pb^{2+} , 10^{-4} М	$767,59 \pm 6,46$	$838,72 \pm 3,11$
ГБ, $10^{-7}\%$	$738,51 \pm 3,98$	$819,49 \pm 5,08$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, $10^{-7}\%$	$761,02 \pm 2,70$	$835,30 \pm 0,89$
ЭК, $10^{-7}\%$	$744,01 \pm 5,90$	$819,93 \pm 1,92$
Pb^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, $10^{-7}\%$	$719,28 \pm 2,77$	$814,74 \pm 2,35$

Заклучение

Использование brassinosteroids (homobrassinolide and epicastasterone) в оптимальных концентрациях позволяет повысить устойчивость люпина узколистного и гороха посевного к действию ионов свинца.

Под воздействием ионов свинца увеличивается активность пероксидазы и каталазы, которые являются одним из важнейших механизмов защиты в условиях токсичного действия ионов тяжелых металлов. В результате активации ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и пероксидазы) подавляется образование избыточных активных форм кислорода и снижается гибель клеток под действием ионов тяжелых металлов.

Гомобрассинолид и эпикастостерон обладает антистрессовым действием в условиях токсического действия свинца на бобовые культуры, что выражается в снижении активности ферментов антиоксидантной системы. Показано, что изменения биохимических процессов в клетках, происходящие под влиянием ионов свинца, в определенной степени могут быть нивелированы действием brassinosteroids.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хрипач, В. А. Брассиностероиды / В. А. Хрипач, Ф. А. Лахвич, В. Н. Жабинский. – Минск : Наука и техника, 1993. – 287 с.
2. Агеева, Л. Ф. Влияние brassinosteroids на формирование стеблей и содержание ионов кальция и калия в растениях ярового ячменя / Л. Ф. Агеева, Л. Д. Прусакова, С. И. Чинова // Агрохимия. – 2001. – № 6. – С. 49–55.
3. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М. : Высш. шк., 1975. – С. 207–209.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 29.06.2017

Artsiamuk A.G., Karziuk A.V., Marynevich A.A. Growth Regulating Activity and Anti-Stress Effect of Brassinosteroids on Legumes Under the Influence of Lead Ions

The effect of brassinosteroids (homobrassinolide and epicastasterone) on the growth of lupine and Pisum sativum under the influence of lead ions was studied. It was revealed that homobrassinolide and epicastasterone have anti-stress effect under conditions of toxic action of lead on legumes, resulting in reduced activity of antioxidant enzymes. It was shown that changes in biochemical processes in cells that occur under the influence of lead ions to some extent can be offset by the effect of brassinosteroids.