

УДК 577.175.1

Е. Г. Артемук¹, А. А. Мариневич²

¹канд. биол. наук, доц. каф. химии

Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина,
зав. сектором качества кормов лаборатории биохимии

Полесского аграрно-экологического института НАН Беларуси

²магистрант биологического факультета

Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина

e-mail: chem@brsu.brest.by

РОСТРЕГУЛИРУЮЩЕЕ И АНТИСТРЕССОВОЕ ДЕЙСТВИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ЗЛАКОВЫЕ КУЛЬТУРЫ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ КАДМИЯ*

Изучено влияние brassinosterоидов (гомобрассинолида и эпикастостерона) на рост ячменя ярового и пшеницы озимой в условиях воздействия ионов кадмия. Показано, что гомобрассинолид и эпикастостерон обладают антистрессовым действием в условиях токсического действия кадмия на злаковые культуры, что выражается в снижении активности ферментов антиоксидантной системы. Показано, что изменения биохимических процессов в клетках, происходящих под действием ионов кадмия, в определенной степени могут быть нивелированы действием brassinosterоидов.

Введение

Поступление тяжелых металлов в окружающую среду связано с активной деятельностью человека. Их основные источники – промышленность, автотранспорт, котельные, мусоросжигающие установки и сельскохозяйственное производство. К отраслям промышленности, загрязняющим окружающую среду тяжелыми металлами, относятся черная и цветная металлургия, добыча твердого и жидкого топлива, горно-обогатительные комплексы, стекольное, керамическое, электротехническое производство и др. Значительное увеличение содержания тяжелых металлов в окружающей среде сопровождается их накоплением в растениях, что оказывает негативное влияние на рост, развитие и продуктивность растений. Это проявляется в снижении всхожести семян, замедленном росте, ненормальном развитии корневой системы, увядании, гибели растений [1; 2].

Токсичность кадмия для растений проявляется в нарушении активности ферментов, торможении фотосинтеза, нарушении транспирации. Он блокирует SH-группы белков и небелковых соединений, в том числе компонентов антиоксидантной защиты [3]. Это сопровождается активацией свободнорадикального окисления и последующего окисления макромолекул. Кадмий взаимодействует с клеточными мембранами, изменяя их проницаемость и вызывая разрывы. При токсичном воздействии металла у растений наблюдаются задержка роста, повреждение корневой системы и хлороз листьев [4]. Кадмий легко поступает из почвы и атмосферы в растения.

В последние годы появляется большое количество публикаций, в которых обсуждается возможность модификации действия тяжелых металлов на культурные растения при применении регуляторов роста, в частности brassinosterоидов.

*Работа выполнена в рамках НИР «Оценка морфофизиологической и генетической активности brassinosterоидов и стероидных гликозидов для расширения спектра действия биорегуляторов растений стероидной природы» подпрограммы 2.3 «Биорегуляторы растений» ГПНИ «Химические технологии и материалы» (№ госрегистрации 20160577 от 01.04.2016).

В научной литературе широко обсуждается способность brassinosteroidов регулировать рост и развитие растений в процессе онтогенеза. Известно, что они изменяют активность ферментов, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот, регулируют метаболизм аминокислот и жирных кислот, влияют на гормональный статус растительного организма, стимулируют растяжение и деление клеток. Детальное изучение функций brassinosteroidов позволило выявить их антистрессовый характер в повышении устойчивости растений к засухе, анаэробнобиозу, засолению, полеганию [5; 6]. Однако механизмы стресс-протекторного действия brassinosteroidов остаются в настоящее время практически не исследованными. Полученные данные могут стать основанием для разработки способов применения brassinosteroidов в сельскохозяйственной практике для повышения устойчивости растений к стрессовым факторам окружающей среды, увеличения урожая и улучшения его качества.

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

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования были выбраны злаковые культуры: ячмень яровой сорта «Стратус» и пшеница озимая сорта «Сейлор».

Для оценки влияния brassinosteroidов (эпикастостерона и гомобрассинолида) на рост растений и активность ферментов (каталазы и пероксидазы) у ячменя ярового сорта «Стратус» и пшеницы озимой сорта «Сейлор» в условиях воздействия ионов кадмия были использованы следующие варианты опыта:

- 1) дистиллированная вода (контроль);
- 2) эпикастостерон с концентрацией 10^{-8} %;
- 3) гомобрассинолид с концентрацией 10^{-8} %;
- 4) CdCl_2 с пороговой концентрацией 10^{-4} М;
- 5) CdCl_2 с концентрацией 10^{-4} М + эпикастостерон с концентрацией 10^{-8} %;
- 6) CdCl_2 с концентрацией 10^{-4} М + гомобрассинолид с концентрацией 10^{-8} %.

Семена злаковых культур предварительно замачивали 6 часов в растворах brassinosteroidов (гомобрассинолида и эпикастостерона). Далее семена проращивали ролонным методом [7]. На 10-е сутки проводили измерение длины корешков и побегов, определяли массу 20 корешков и побегов и исследовали активность ферментов каталазы и пероксидазы в корешках и побегах проростков ячменя и пшеницы использованных вариантов опыта. Определение активности пероксидазы в корешках и побегах проростков проводили по методу А. Н. Бояркина [8], 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 [9], основанному на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что у ячменя ярового при использовании кадмия в концентрации 10^{-4} М наблюдалось сильное ингибирование роста корешков и побегов. Длина корешков уменьшалась на 36,1 %, а побега – на 16,7 % (таблица 1). Соответственно, наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов. Предварительная обработка семян ячменя гомобрассинолидом в концентрации 10^{-8} % привела к увеличению длины корней и побегов, а также массы. Так, длина корней и побегов у растений ячменя увеличивалась на 12,9 и 12,5 %. Предварительная обработка семян

эпикастостероном в концентрации 10^{-8} %, приводила к увеличению длины корней и побегов у растений ячменя ярового на 4,9 и 5,5 % соответственно.

Одно из проявлений защитных реакций растений в условиях стресс-факторов – возрастание активности пероксидазы и каталазы, которые являются ферментами антиоксидантной защиты и обеспечивают нормальный ход окислительных процессов при различного рода неблагоприятных воздействиях.

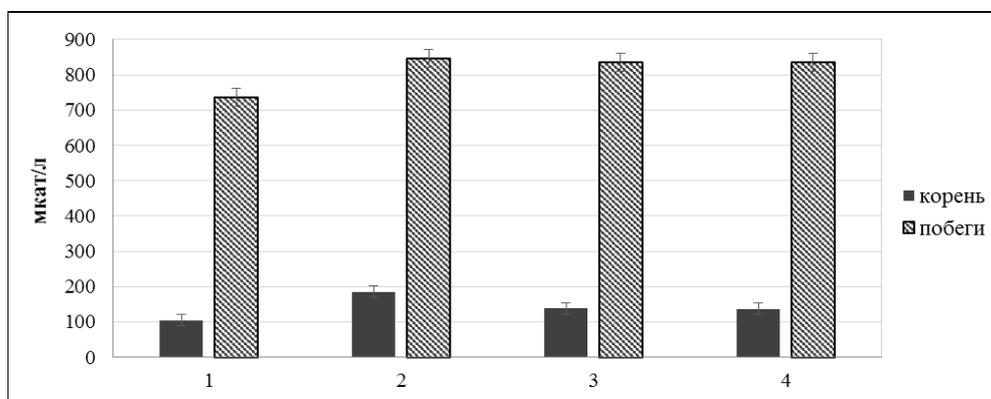
Присутствие в среде ионов кадмия в концентрации 10^{-4} М приводило к увеличению активности каталазы в корнях ячменя ярового на 77,1 % и в побегах на 14,9 % по сравнению с контрольными растениями (рисунок 1).

Предобработка семян ячменя ярового брассиностероидами приводила к снижению активности каталазы в корнях на 25,5 (гомобрассинолид) и 26,0 % (эпикастостерон) и в побегах – на 1,2 (гомобрассинолид) и 1,3 % (эпикастостерон).

Таблица 1. – Влияние гомобрассинолида и эпикастостерона на длину корней, побегов и массу ячменя ярового сорта «Стратус» при воздействии ионов кадмия (10-е сутки)

Вариант опыта	Корни		Побеги	
	длина	масса (20 шт)	длина	масса (20 шт)
Контроль	86,92 ± 1,71	1,79 ± 0,01	132,72 ± 2,22	2,35 ± 0,03
Cd^{2+} , 10^{-4} М	55,55 ± 1,82**	0,92 ± 0,01**	110,58 ± 2,39**	1,87 ± 0,01**
ГБ, 10^{-8} %	94,55 ± 2,55*	1,90 ± 0,02*	138,50 ± 2,41	2,41 ± 0,01
Cd^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, 10^{-8} %	62,75 ± 1,74**	1,03 ± 0,01*	124,37 ± 2,34**	2,03 ± 0,01**
ЭК, 10^{-8} %	99,77 ± 2,64**	1,96 ± 0,02*	139,35 ± 2,32*	2,56 ± 0,02*
Cd^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, 10^{-8} %	58,27 ± 1,51	0,98 ± 0,01*	116,68 ± 1,86*	2,01 ± 0,01**

Примечание – * – достоверно при $P \leq 0,05$; ** – достоверно при $P \leq 0,01$.

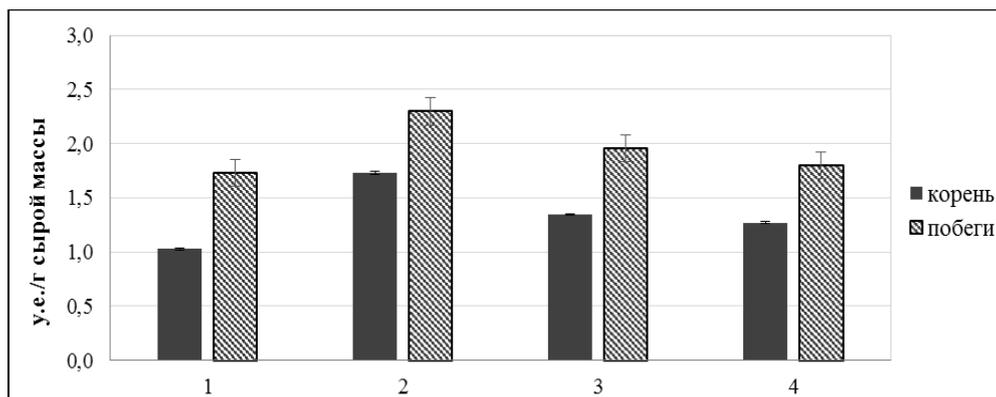


1 – Контроль; 2 – Cd^{2+} , 10^{-4} М; 3 – Cd^{2+} , 10^{-4} М + ГБ, 10^{-8} %; 4 – Cd^{2+} , 10^{-4} М + ЭК, 10^{-8} %

Рисунок 1. – Активность каталазы в проростках ячменя ярового сорта «Стратус» в присутствии ионов кадмия

В детоксикации перекиси водорода важную роль, кроме каталазы, играет пероксидаза. Было установлено, что при воздействии ионов кадмия в концентрации 10^{-4} М наблюдалось увеличение активности пероксидазы в проростках ячменя ярового (в корнях – на 67,9 %, в побегах – на 32,9 %) (рисунок 2).

Предварительная обработка семян ячменя ярового гомобрассинолидом приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях на 21,9 %, в побегах – на 14,8 %). Предобработка эпикастостероном приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях – на 26,6 %, в побегах – на 21,7 %).



1 – Контроль; 2 – Cd²⁺, 10⁻⁴ M; 3 – Cd²⁺, 10⁻⁴ M + ГБ, 10⁻⁸ %; 4 – Cd²⁺, 10⁻⁴ M + ЭК, 10⁻⁸ %

Рисунок 2. – Активность пероксидазы в проростках ячменя ярового сорта «Стратус» в присутствии ионов кадмия

У пшеницы озимой при использовании кадмия в концентрации 10⁻⁴ M также наблюдалось ингибирование роста корешков и побегов. Длина корешков уменьшалась на 22,2 %, побега – на 12,2 % (таблица 2). Соответственно, наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов.

Таблица 2. – Влияние гомобрасинолида и эпикастостерона на длину корней, побегов и массу растений пшеницы озимой сорта «Сейлор» при воздействии ионов кадмия (10-е сутки)

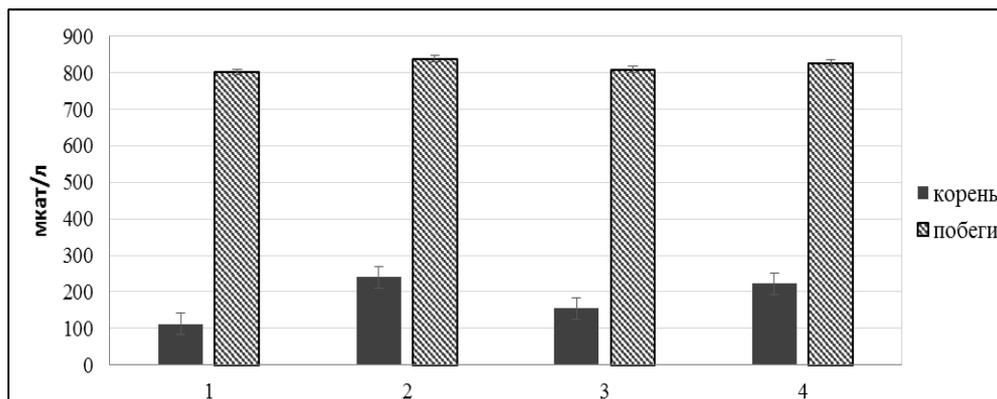
Вариант опыта	Корни		Побеги	
	длина	масса (20 шт)	длина	масса (20 шт)
Контроль	106,97 ± 2,93	1,42 ± 0,04	130,35 ± 2,99	1,69 ± 0,03
Cd ²⁺ , 10 ⁻⁴ M	83,22 ± 1,84**	1,26 ± 0,02*	114,47 ± 3,63**	1,52 ± 0,03*
ГБ, 10 ⁻⁸ %	119,43 ± 2,87**	1,57 ± 0,06	151,0 ± 3,83**	1,92 ± 0,05*
Cd ²⁺ , 10 ⁻⁴ M + ГБ, 10 ⁻⁸ %	94,43 ± 2,28**	1,36 ± 0,06	123,68 ± 2,70*	1,62 ± 0,02
ЭК, 10 ⁻⁸ %	118,22 ± 2,49**	1,55 ± 0,05	150,98 ± 3,10**	1,90 ± 0,04*
Cd ²⁺ , 10 ⁻⁴ M + ЭК, 10 ⁻⁸ %	95,37 ± 1,81**	1,38 ± 0,05	125,48 ± 3,44*	1,66 ± 0,03*

Примечание – * – достоверно при $P \leq 0,05$; ** – достоверно при $P \leq 0,01$.

Предварительная обработка семян гомобрасинолидом в концентрации 10⁻⁸ % приводила к увеличению длины корней и побегов у растений пшеницы озимой на 13,5 и 8,0 %. Предварительная обработка семян эпикастостероном в концентрации 10⁻⁸ % приводила к увеличению длины корней и побегов у растений пшеницы озимой (на 14,6 и 9,6 % соответственно).

В опытах с пшеницей ионы кадмия в концентрации 10⁻⁴ M приводили к сильному увеличению активности каталазы. Так, активность каталазы в корнях увеличивалась на 114,6 %, в побегах – на 4,5 % (рисунок 3).

Предварительная обработка семян гомобрасинолидом в концентрации 10⁻⁸ % приводила к снижению активности каталазы в корнях на 35,4 % и побегах на 3,5 %. Предобработка семян эпикастостероном в концентрации 10⁻⁸ % приводила к снижению активности каталазы в корнях на 7,2 % и в побегах на 1,4 %.

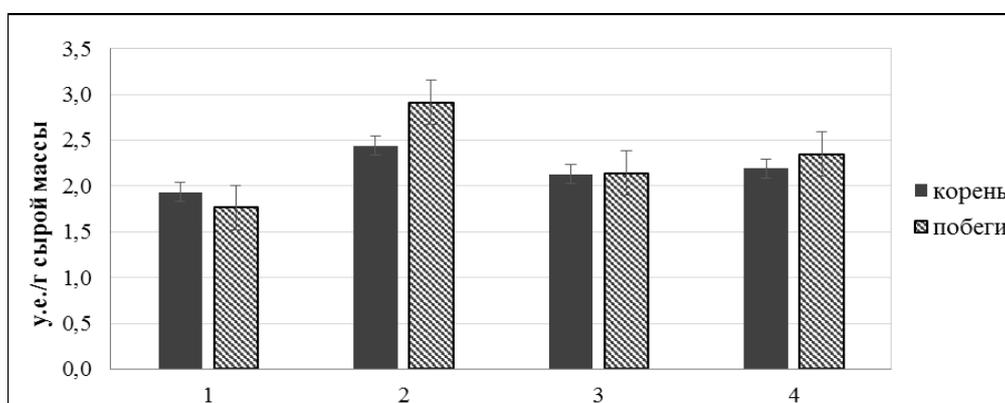


1 – Контроль; 2 – Cd^{2+} , 10^{-4} M; 3 – Cd^{2+} , 10^{-4} M + ГБ, 10^{-8} %; 4 – Cd^{2+} , 10^{-4} M + ЭК, 10^{-8} %

Рисунок 3. – Активность каталазы в проростках пшеницы озимой сорта «Сейлор» в присутствии ионов кадмия

Ионы кадмия в концентрации 10^{-4} M также приводили к увеличению активности пероксидазы. Так, активность пероксидазы в корнях увеличивалась на 25,8 %, в побегах – на 64,4 % (рисунок 4).

Предварительная обработка семян пшеницы озимой гомобрассинолидом приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях на 12,7 %, в побегах – на 26,5 %). Предобработка эпикастостероном также приводила к снижению активности пероксидазы (в корнях на 10,3 %, в побегах – на 19,2 %).



1 – Контроль; 2 – Cd^{2+} , 10^{-4} M; 3 – Cd^{2+} , 10^{-4} M + ГБ, 10^{-8} %; 4 – Cd^{2+} , 10^{-4} M + ЭК, 10^{-8} %

Рисунок 4. – Активность пероксидазы в проростках пшеницы озимой сорта «Сейлор» в присутствии ионов кадмия

Заключение

Под воздействием ионов кадмия увеличивается активность каталазы и пероксидазы, 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 кадмия на злаковые культуры, что выражается в снижении активности ферментов антиоксидантной системы. Предобработка семян растений брас-

синостероидами способствует снижению повреждающего действия неблагоприятных факторов, что указывает на их участие в развитии реакций, способствующих адаптации растений к возможным стрессовым ситуациям. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о больших возможностях применения brassinosteroidов для повышения адаптационной способности злаковых культур в условиях воздействия тяжелых металлов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нестерова, А. Н. Действие тяжелых металлов на корни растений. Поступление свинца, кадмия и цинка в корни, локализация металлов и механизмы устойчивости растений / А. Н. Нестерова // Биол. науки. – 1989. – № 9. – С. 72–86.

2. Серегин, И. В. Является ли барьерная функция эндодермы единственной причиной устойчивости ветвления корней к солям тяжелых металлов / И. В. Серегин, В. Б. Иванов // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 6. – С. 922–925.

3. Изучение взаимодействия ионов двухвалентного кадмия с нуклеотидами и природной ДНК / В. А. Сорокин [и др.] // Биофизика. – 1997. – Т. 42, № 1. – С. 105–116.

4. Нестерова, А. Н. Воздействие ионов свинца, кадмия и цинка на клеточную организацию меристемы и рост корней проростков кукурузы : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / А. Н. Нестерова. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – 26 с.

5. Регуляторы роста растений с антистрессовыми и иммунопротекторными свойствами / Л. Д. Прусакова [и др.] // Агрехимия. – 2005. – № 11. – С. 76–86.

6. Хрипач, В. А. Brassinosteroidы / В. А. Хрипач, Ф. А. Лахвич, В. Н. Жабинский. – Минск : Наука и техника, 1993. – 287 с.

7. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038-84. – Взамен ГОСТ 12038-66. – Введ. 01.07.86. – М. : Стандартинформ, 2011. – С. 36–64.

8. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М. : Высш. шк., 1975. – С. 207–209.

9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 04.03.2019

Artsiamuk A. G., Marynevich A. A. Growth Regulating Activity and Anti-Stress Effect of Brassinosteroids on Gramineous under the Influence of Cadmium Ions

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