# БІЯЛОГІЯ

УДК 577.175.1:581.143

***Елена Георгиевна Артемук***
*канд. биол. наук, доц., доц. каф. химии*
*Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина*
***Alena Artsiamuk***
*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor,*
*Associate Professor of the Department of Chemistry*
*at the Brest State A. S. Pushkin University*
e-mail: artsiamuk@mail.ru

## ПРИМЕНЕНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИ НА БОБОВЫЕ КУЛЬТУРЫ*

*Представлены результаты изучения влияния брассиностероидов (гомобрассинолида и эпикастастерона) на рост люпина узколистного и гороха посевного в условиях воздействия ионов меди. Показано, что гомобрассинолид и эпикастастерон обладают антистрессовым действием в условиях токсического действия меди на бобовые культуры, что выражается в снижении активности фермента антиоксидантной защиты – каталазы. Предобработка семян растений люпина и гороха брассиностероидами, вероятно, способствует снижению повреждающего действия меди на растения, что указывает на их участие в развитии реакций, способствующих предадаптации растений к действию ионов меди.*

***Ключевые слова:*** *брассиностероиды, гомобрассинолид, эпикастастерон, бобовые культуры, медь.*

### *The Use of Brassinosteroids to Reduce Toxic Copper Action on Legumes*

*The article presents the results of studying the effect of brassinosteroids (homobrassinolid and epicasthasterone) on the growth of the lupine narrow-leaved and pea seed under the conditions of impact of copper ions. It is shown that homobrassinolid and epicasthasterone have an anti-stress action under the conditions of the toxic copper effect on legume crops, which is expressed in reducing the activity of the antioxidant protection enzyme – catalase. The preprocessing of seeds of lupine and pea plants with brassinosteroids probably contributes to a decrease in the damaging effect of copper on plants, which indicates their participation in the development of reactions that contribute to pre-adaptation of plants to the action of copper ions.*

***Key words:*** *brassinosteroids, homobrassinolid, epicasthasterone, legumes, copper.*

### Введение

Проблема повышения продуктивности сельскохозяйственных культур остается одной из важнейших в растениеводстве, и ее решение позволит значительно повысить продовольственную безопасность Беларуси. Дестабилизирующими факторами, не позволяющими в полной мере раскрыть потенциал районированных сортов, являются погодные условия, болезни растений и загрязнение среды. Увеличение техногенной нагрузки на биосферу ухудшает качество природной среды и нарушает существующие в природе связи, что приводит к местным, а иногда и глобальным изменениям, имеющим зачастую необратимый характер [1].

В последние десятилетия интенсивное промышленное использование природных ресурсов вызвало существенные изменения распределения некоторых химических элементов в поверхностном слое зоны аэрации. Прежде всего это касается тяжелых металлов, накопление высоких концентраций которых в естественной среде связано с антропогенной деятельностью. Выбросы и сбросы техногенных объектов с высоким содержа-

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

нием тяжелых металлов аккумулируются в почвах, которые в значительной степени подвержены влиянию, обусловленному промышленной деятельностью человека [2].

Многие из тяжелых металлов относятся к эссенциальным химическим элементам, которые в следовых количествах необходимы для метаболизма, роста и развития растений, являясь составной частью различных ферментов. Они активно участвуют в метаболизме, но при избытке в среде могут проявлять сильное токсическое действие [3]. В связи с этим изучение реакции растений на действие тяжелых металлов вызывает не только большой научный, но и практический интерес. В последнее время активно исследуются поглощение, транспорт и аккумуляция тяжелых металлов в тканях и органах растений, их влияние на основные физиологические процессы, а также механизмы стресс-устойчивости растений.

Установлено, что в присутствии тяжелых металлов не только тормозятся рост и развитие растений, но и происходят многочисленные структурно-функциональные изменения в фотосинтетическом аппарате, нарушаются процессы дыхания, транспирации, транспорта веществ и т. д. В результате этого снижается продуктивность отдельных растений и целых фитоценозов, а иногда даже полностью разрушаются растительные сообщества [4–6].

Растения весьма чувствительны к повышенным концентрациям меди. Поскольку медь является токсичным, но необходимым для жизнедеятельности микроэлементом, растения должны, с одной стороны, доставлять этот элемент к нуждающимся в нем частям растения, а с другой – предотвращать его токсическое действие. Медь в растениях входит в состав пластоцианина, участвующего в фотосинтезе, и некоторых других медьсодержащих белков и окислительных ферментов [7]. Однако интервал концентраций меди, при которых этот металл не проявляет своего токсического действия, очень небольшой. Даже двукратное превышение оптимальных концентраций меди может вызвать негативное воздействие.

Растения накапливают медь в основном в корнях и в меньшей степени в листьях. Токсическое действие меди в повышенных концентрациях проявляется в снижении накопления фитомассы, уменьшении оводненности тканей и содержания хлорофилла, ингибировании поглощения ионов некоторых других металлов и их транслокации по растению. Высокие концентрации этого металла приводят к развитию металлотоксикозов (хлорозы, некрозы, ингибирование роста корней и побегов) вплоть до полной гибели растений.

В последние годы появляется большое количество публикаций, в которых обсуждается возможность модификации действия тяжелых металлов на культурные растения при применении регуляторов роста, в частности брассиностероидов. Известно, что предобработка растений БС способствует снижению повреждающего действия неблагоприятных факторов различной природы, что указывает на их участие в развитии реакций, способствующих предадаптации растений к возможным стрессовым ситуациям [8; 9].

Однако вопрос о механизме действия брассиностероидов остается до конца не решенным и требует дальнейших углубленных исследований их участия в защите растений от засухи, засоления, полегания, токсического влияния тяжелых металлов.

Целью данной работы является изучение влияния брассиностероидов (гомобрассинолида и эпикастастерона) на рост и антистрессовую устойчивость растений бобовых культур в условиях воздействия ионов меди.

**Материалы и методы исследования**

Для изучения влияния брассиностероидов (гомобрассинолида и эпикастастерона) на рост и антистрессовую устойчивость бобовых культур в условиях воздействия ионов меди в качестве объектов исследования были выбраны бобовые (люпин узколистный

сорта Жодинский, горох посевной сорта Стартер) культуры. Предварительно были определены оптимальные концентрации гомобрассинолида и эпикастастерона, оказывающие максимальное стимулирующее влияние на рост растений люпина и гороха.

Для оценки влияния брассиностероидов (эпикастастерона и гомобрассинолида) на рост растений и активность фермента каталазы у люпина узколистного сорта Жодинский в условиях пороговой токсической концентрации ионов меди были использованы следующие варианты опыта:

1) дистиллированная вода (контроль);
2) эпикастастерон с концентрацией $10^{-6}$ % (предварительная обработка);
3) гомобрассинолид с концентрацией $10^{-6}$ % (предварительная обработка);
4) $CuSO_4$ с пороговой концентрацией $10^{-4}$ М;
5) $CuSO_4$ с концентрацией $10^{-4}$ М + эпикастастерон с концентрацией $10^{-6}$ % (предварительная обработка);
6) $CuSO_4$ с концентрацией $10^{-4}$ + гомобрассинолид с концентрацией $10^{-6}$ % (предварительная обработка).

Для оценки влияния брассиностероидов (эпикастастерона и гомобрассинолида) на рост и активность фермента каталазы у гороха посевного сорта Стартер в условиях пороговой токсической концентрации ионов меди были использованы следующие варианты опыта:

1) дистиллированная вода (контроль);
2) эпикастастерон с концентрацией $10^{-7}$ % (предварительная обработка);
3) гомобрассинолид с концентрацией $10^{-7}$ % (предварительная обработка);
4) $CuSO_4$ с пороговой концентрацией $10^{-4}$ М;
5) $CuSO_4$ с концентрацией $10^{-4}$ М + эпикастастерон с концентрацией $10^{-7}$ % (предварительная обработка);
6) $CuSO_4$ с концентрацией $10^{-4}$ М + гомобрассинолид с концентрацией $10^{-7}$ % (предварительная обработка).

Семена бобовых культур предварительно замачивали 6 часов в растворах брассиностероидов (гомобрассинолида и эпикастастерона). На 10-е сутки проращивания семян проводили измерение длины корней и побегов, а также определяли массу 20 корней и побегов и определяли активность фермента каталазы в корнях и побегах проростков люпина узколистного и гороха посевного использованных вариантов опыта.

Устойчивость бобовых культур к ионам меди была установлена на основе показателя индекса толерантности (RTI) [10], который представляет собой отношение средней длины корней (побегов), либо массы опытных растений к средней длине корней (побегов), либо массы в контроле. Показатель RTI позволяет объективно судить об отзывчивости растений на воздействие ионов меди.

Определение активности каталазы в корнях и побегах люпина узколистного и гороха посевного проводили по методу М. А. Королюк [11], основанному на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

**Результаты и их обсуждение**

Проведенные исследования показали, что при использовании ионов меди в концентрации $10^{-4}$ М наблюдалось ингибирование роста корней и побегов у растений люпина узколистного. Длина корней уменьшалась на 38,6, а побегов – на 80,4 % (таблица 1). Соответственно, наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов.

Предварительная обработка семян гомобрассинолидом в концентрации $10^{-6}$ % приводила к увеличению длины корней и побегов у растений люпина узколистного на 13,0 и 28,5 % соответственно. Предварительная обработка семян эпикастастероном

в концентрации $10^{-6}$ % также приводила к увеличению длины корней и побегов у растений люпина узколистного (на 20,8 и 34,2 % соответственно).

Таблица 1. – Влияние гомобрассинолида (ГБ) и эпикастастерона (ЭК) на длину корней, побегов и массу люпина узколистного сорта Жодинский при воздействии ионов меди

| Вариант опыта | Корень | | Побег | |
|---|---|---|---|---|
| | длина, мм | масса (20 шт), г | длина, мм | масса (20 шт), г |
| Контроль | 33,8 ± 0,93 | 3,33 ± 0,07 | 62,9 ± 1,50 | 4,96 ± 0,07 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М | 20,8 ± 0,58** | 1,20 ± 0,01*** | 12,3 ± 0,54*** | 1,40 ± 0,07*** |
| ГБ, $10^{-6}$ % | 35,1 ± 0,67 | 3,36 ± 0,13 | 64,2 ± 1,55 | 4,85 ± 0,04 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ГБ, $10^{-6}$ % | 23,5 ± 0,52* | 1,24 ± 0,03 | 15,8 ± 0,46* | 1,60 ± 0,05 |
| ЭК, $10^{-6}$ % | 33,4 ± 0,64 | 3,71 ± 0,14 | 70,4 ± 1,36* | 5,20 ± 0,02* |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ЭК, $10^{-6}$ % | 25,1 ± 0,56* | 1,34 ± 0,05 | 16,5 ± 0,55* | 1,59 ± 0,04 |

*Примечание – * – достоверно при $P \leq 0,05$; ** – при $P \leq 0,01$; *** – при $P \leq 0,001$*

Более высокий индекс толерантности отмечался и по длине, и по массе корней и побегов при предобработке семян люпина узколистного эпикастастероном (таблица 2).

Таблица 2. – Индекс толерантности люпина узколистного сорта Жодинский к влиянию ионов меди при воздействии гомобрассинолида (ГБ) и эпикастастерона (ЭК)

| Вариант опыта | Корень | | Побег | |
|---|---|---|---|---|
| | длина | масса (20 шт) | длина | масса (20 шт) |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М | 0,61 | 0,36 | 0,20 | 0,28 |
| ГБ, $10^{-6}$ % | 1,04 | 1,01 | 1,02 | 0,98 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ГБ, $10^{-6}$ % | 0,69 | 0,37 | 0,25 | 0,32 |
| ЭК, $10^{-6}$ % | 0,99 | 1,11 | 1,12 | 1,05 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ЭК, $10^{-6}$ % | 0,74 | 0,40 | 0,26 | 0,32 |

Значительная роль в стрессовых ответных реакциях на воздействия неблагоприятных факторов среды (в частности, тяжелых металлов) принадлежит свободнорадикальным реакциям, связанным с участием кислородных радикалов. Клетки защищаются от активных форм кислорода с помощью антиоксидантов. К основным антиоксидантным ферментам относятся супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза. Их синтез индуцируется в ответ на повышение уровня свободных радикалов [12; 13]. Основные функции в регуляторной деятельности клетки выполняют пероксидаза и каталаза, обеспечивающие нормальный ход окислительных процессов при различного рода неблагоприятных воздействиях [14; 15]. Одно из проявлений защитных реакций растений в условиях стресс-факторов – это возрастание активности пероксидазы и каталазы.

В опытах с люпином узколистным ионы меди в концентрации $10^{-4}$ М приводили к увеличению активности каталазы. Так, активность каталазы в корнях увеличивалась на 11,9, а в побегах – на 3,4 % (рисунок 1). Предварительная обработка семян люпина узколистного гомобрассинолидом приводила к понижению активности каталазы (в корнях – на 11,8, в побегах – на 3,3 %). Предобработка эпикастастероном также приводила к уменьшению активности каталазы в корнях на 18,7 %.

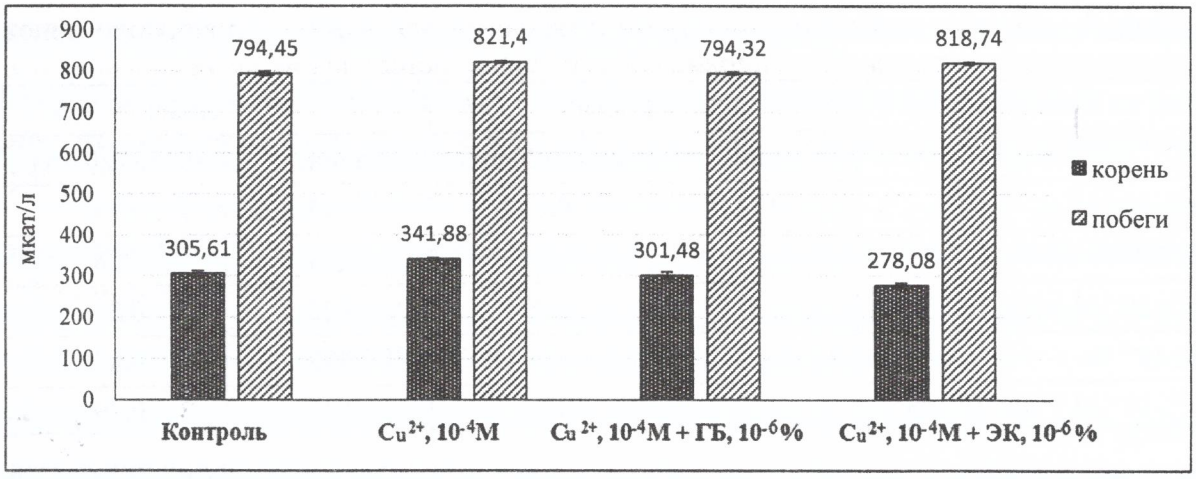


**Рисунок 1. – Активность каталазы в проростках люпина узколистного сорта Жодинский в присутствии ионов меди**

У гороха посевного при использовании меди в концентрациях $10^{-4}$ М также наблюдалось сильное ингибирование роста корней и побегов. Длина корней уменьшалась на 49,4, а побегов – на 82,3 % (таблица 3). Соответственно наблюдалось и снижение средней массы 20 корней и побегов. Предварительная обработка семян гомобрассинолидом в концентрации $10^{-7}$ % приводила к увеличению длины побегов на 32,4 %. При предварительной обработке семян эпикастастероном в концентрации $10^{-7}$ % длина корней и побегов у растений гороха посевного увеличивалась на 16,8 и 89,3 % соответственно (таблица 3).

Таблица 3. – Влияние гомобрассинолида (ГБ) и эпикастастерона (ЭК) на длину корней, побегов и массу гороха посевного сорта Стартер при воздействии ионов меди

| Вариант опыта | Корни | | Побеги | |
|---|---|---|---|---|
| | длина, мм | масса (20 шт), г | длина, мм | масса (20 шт), г |
| Контроль | 59,8 ± 1,34 | 3,51 ± 0,07 | 59,7 ± 0,84 | 3,19 ± 0,09 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М | 30,3 ± 0,79*** | 0,74 ± 0,04*** | 10,6 ± 0,29*** | 0,58 ± 0,01*** |
| ГБ, $10^{-7}$ % | 60,3 ± 0,89 | 3,59 ± 0,20 | 44,4 ± 0,83*** | 2,50 ± 0,18* |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ГБ, $10^{-7}$ % | 30,5 ± 0,58 | 1,03 ± 0,03* | 13,9 ± 0,43** | 0,67 ± 0,03 |
| ЭК, $10^{-7}$ % | 61,7 ± 1,16 | 3,67 ± 0,15 | 54,9 ± 1,12* | 2,62 ± 0,14* |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ЭК, $10^{-7}$ % | 35,3 ± 0,70* | 1,36 ± 0,05** | 19,9 ± 0,55*** | 0,93 ± 0,07* |

*Примечание – * – достоверно при $P \leq 0,05$; ** – при $P \leq 0,01$; *** – при $P \leq 0,001$*

У растений гороха посевного более высокий индекс толерантности по длине и массе корней и побегов наблюдался при предварительной обработке растений эпикастастероном (таблица 4).

Таким образом, эпикастастерон в большей степени повышал устойчивость растений гороха посевного сорта Стартер к воздействию ионов меди.

Таблица 4. – Индекс толерантности гороха посевного сорта Стартер к влиянию ионов меди при воздействии гомобрассинолида (ГБ) и эпикастастерона (ЭК)

| Вариант опыта | Корень | | Побег | |
|---|---|---|---|---|
| | длина | масса (20 шт) | длина | масса (20 шт) |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М | 0,51 | 0,21 | 0,18 | 0,18 |
| ГБ, $10^{-7}$ % | 1,01 | 1,02 | 0,74 | 0,78 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ГБ, $10^{-7}$ % | 0,51 | 0,29 | 0,23 | 0,21 |
| ЭК, $10^{-7}$ % | 1,03 | 1,05 | 0,92 | 0,82 |
| $Cu^{2+}$, $10^{-4}$ М + ЭК, $10^{-7}$ % | 0,59 | 0,39 | 0,33 | 0,29 |

Установлено, что при воздействии ионов меди в концентрации $10^{-4}$ М наблюдалось увеличение активности каталазы в проростках гороха посевного (корни на 18,6, а побеги – на 5,1 %) (рисунок 2). Предварительная обработка семян гороха посевного гомобрассинолидом приводила к незначительному снижению активности каталазы лишь в побегах (на 2,2 %). Предобработка эпикастастероном приводила к снижению активности каталазы (в корнях на 15,1, в побегах – на 2,6 %).

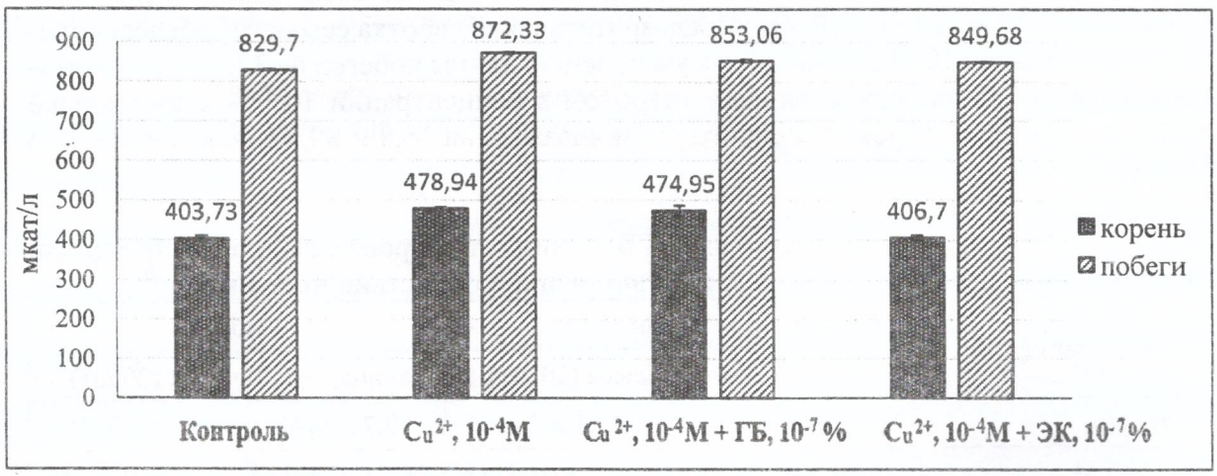


**Рисунок 2. – Активность каталазы в проростках гороха посевного сорта Стартер в присутствии ионов меди**

**Заключение**

Высокая концентрация ионов меди ($10^{-4}$ М) приводит к значительному уменьшению длины корней и побегов у люпина узколистного и гороха посевного, а также к морфологическим изменениям корней (скрюченности и пожелтению), т. к. корень выступает одним из первых барьеров на пути проникновения ионов тяжелых металлов в растения. Анализ индекса толерантности исследуемых культур показал, что использование брассиностероидов (гомобрассинолида и эпикастастерона) в оптимальных концентрациях ($10^{-6}$ % для люпина и $10^{-7}$ % для гороха) позволяет повысить устойчивость бобовых культур к действию ионов меди.

В растениях бобовых культур (люпин и горох) под воздействием ионов меди увеличивается активность каталазы, которая является одним из важнейших механизмов защиты в условиях токсичного действия ионов тяжелых металлов. Гомобрассинолид и эпикастастерон обладает антистрессовым действием в условиях токсического действия