

БИОЛОГИЯ

УДК 581.1

БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ И ПРИ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ГИПЕРТЕРМИИ

© 2014 г.

Р.Н. Фазиллов, Е.В. Степшина, Е.О. Половинкина

Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

r.fazilov@gmail.com

Поступила в редакцию 26.09.2013

Исследовано влияние некорневой обработки микроэлементами совместно с салициловой кислотой на стрессоустойчивость растений при воздействии хронической гипертермии. Обнаружено, что обработка растений составами с микроэлементами сдерживала окислительные процессы в липидной фракции клеточных мембран при выращивании растений в условиях хронической гипертермии и усиливала накопление пролина. Введение в состав салициловой кислоты приводило к усилению протекторного эффекта микроэлементного состава при хронической гипертермии.

Ключевые слова: стресс, микроэлементы, салициловая кислота, перекисное окисление липидов, пролин, хроническая гипертермия.

Введение

Многочисленные исследования последних десятилетий показали, что независимо от природы воздействия, ответ растения на него развивается по некоторой общей схеме, что позволяет говорить о существовании неспецифической стрессовой реакции на воздействия извне [1–3]. Одним из прикладных направлений современной физиологии растений является создание препаратов на основе биологически активных молекул с антистрессовым эффектом. Салициловая кислота – агент, позволяющий растению приобрести устойчивость к стрессующим факторам через воздействие на компоненты окислительно-восстановительного баланса клетки. Эндогенная салициловая кислота участвует в стрессовой реакции растений. Известно также, что ее экзогенное введение позволяет активизировать в растении механизмы адаптации и снизить негативное влияние стрессоров различной природы. В последнее время появилось большое количество жидких комплексных удобрений (ЖКУ) на основе микроэлементов, применяемых для листовой обработки. Достоинством ЖКУ являются низкие потери питательных веществ, равномерность распределения, возможность точного дозирования, низкая себестоимость, повышенная кон-

центрация элементов в единице объема, возможность совмещения внесения удобрения с применением пестицидов и другие преимущества.

В связи с этим в данной работе исследовано влияние некорневой обработки микроэлементами совместно с салициловой кислотой (СК) на стрессоустойчивость растений при воздействии гипертермии.

Экспериментальная часть

Испытывали 2 типа обработки растений: М/Э – обрабатывали составом, содержащим только элементы питания и микроэлементы (N – 0.49%, K – 0.06%, S – 5.04%, Cu – 0.64%, Zn – 1.36%, Mg – 0.89%, Ni – 0.006%, Li – 0.04%, Co – 0.084%, Fe – 0.4%, Mn – 0.29%, Mo – 0.44%, B – 0.15%, Se – 0.009%), и М/Э+СК – составом на основе тех же элементов с добавлением салициловой кислоты. Семена гороха *Pisum sativum* L. сорта Альбумен проращивали в нормальных условиях (20°C) или в условиях гипертермии (29°C). Обработка препаратами проводилась на 10-й день проращивания в количестве 400 мкл на 1 м², контрольные растения обрабатывали водой. Контролем (К) являлись необработанные растения. Анализ проводили на 14-е сутки. Интенсивность перекисного окисле-

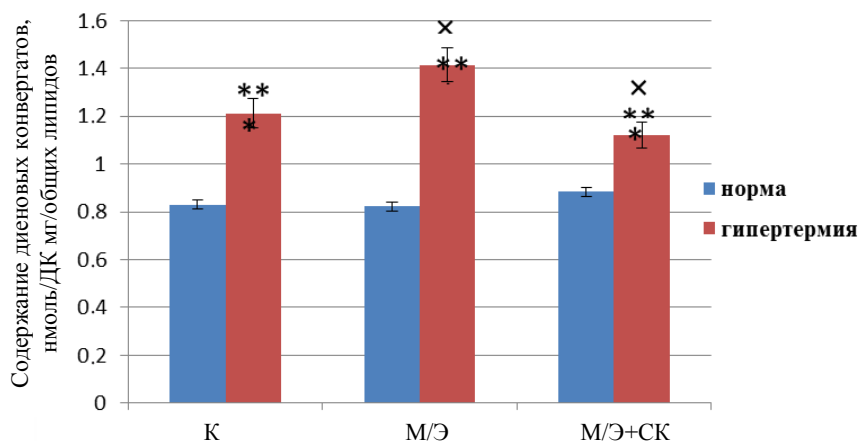


Рис. 1. Содержание диеновых конъюгатов в листьях растений гороха после обработки составами с микроэлементами и салициловой кислотой в условиях гипертермии. * – Достоверное отличие от контроля в нормальных условиях; ** – достоверное отличие от нормы в одном варианте обработки; × – достоверное отличие от контроля при гипертермии

ния оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ) по И.А. Волчегорскому (2002), расчет вели на концентрацию общих липидов по В.С. Камышникову (2000), пролин определяли по методу L.S. Bates (1973) с нингидрином. Расчет морфометрических показателей по цифровым изображениям листьев с помощью программы *BioPs*.

Все опыты проводились в 3-кратной биологической и 3-кратной биохимической повторностях. Достоверность определяли, используя критерий Стьюдента при 5%-ном уровне значимости. Обсчет результатов проводили с помощью программы *SigmaPlot*. На рисунках представлены средние арифметические значения и их среднеквадратичные отклонения.

Результаты и их обсуждение

В клетке существует равновесие между процессом образования и разрушения активных форм кислорода. В ответ на любое воздействие извне это равновесие сдвигается в сторону более активного образования свободных радикалов – окислительный стресс. Окислительный стресс характеризуется активацией окислительных процессов на клеточных мембранах с образованием продуктов перекисного окисления липидов. С этим процессом в современной литературе связывают рецепторную роль мембранных липидов, реагирующих таким образом на любые изменения окружающей клетку среды [4]. Активация ПОЛ может являться сигналом для запуска защитных реакций клетки.

Продуктами, образующимися на первой стадии ПОЛ, являются диеновые конъюгаты ненасыщенных жирных кислот мембранных липидов.

Дальнейшее окисление липидов мембран идет с образованием низкомолекулярных продуктов. Одними из конечных продуктов ПОЛ являются основания Шиффа. Опасность этих продуктов заключается в возникновении гидрофильных пробоев в мембранах и токсическом действии.

Обработка растений микроэлементным составом не вызывала накопления продуктов ПОЛ в нормальных условиях, состав с добавлением СК вызывал незначительное накопление ОШ (на 10% от контроля), что показано также в более ранних многочисленных исследованиях [5–7]. Кроме того известно, что СК может ингибировать активность имеющийся в клетке каталазы [8], но в то же время способствует усилению синтеза этого фермента [9] и активации АФК-генерирующих форм пероксидазы, росту активности супероксиддисмутазы. Эти эффекты СК, вероятно, могли запускать адаптацию растений к тепловой обработке: в проростках, обработанных М/Э+СК и выращенных при гипертермии, уровень продуктов перекисного окисления липидов не отличался от контроля, в то время как в контрольных растениях, выращенных в тех же условиях, накапливались продукты ПОЛ до 130%.

Таким образом, обработка М/Э не приводила к развитию стресса, но СК индуцировала окислительный стресс. В условиях гипертермии оба состава снижали накопление токсичных продуктов ПОЛ и ОШ, причем состав с СК – в большей степени. Из литературы известно, что стрессоры различной природы повышают активность антиоксидантной (АО) системы, что

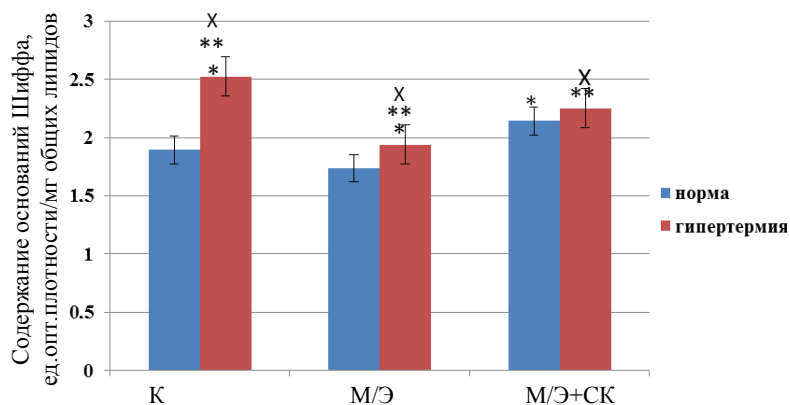


Рис. 2. Содержание оснований Шиффа в листьях растений гороха после обработки составами с микроэлементами и салициловой кислотой в условиях гипертермии. Пояснения – под рис. 1

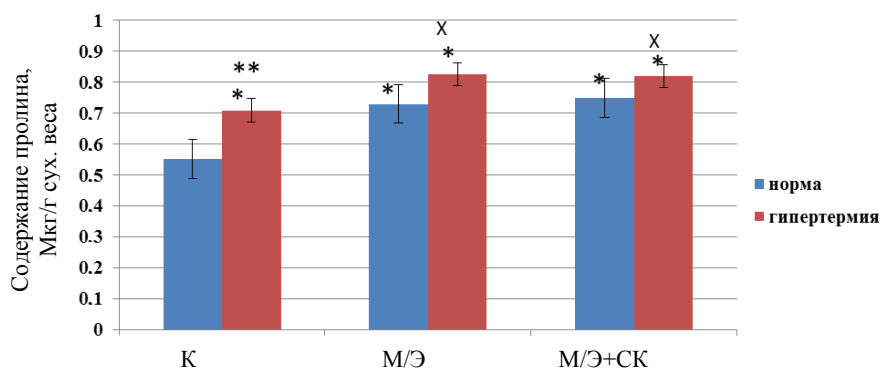


Рис. 3. Содержание пролина в листьях растений гороха после обработки составами с микроэлементами и салициловой кислотой в условиях гипертермии

предупреждает окислительные изменения мембраны. В работе [7] показано, что 500 мкм СК при нанесении на листья повышают активность каталазы и супероксиддисмутазы в условиях кратковременного теплового шока.

В многочисленных исследованиях показано, что пролин накапливается в растении при действии экстремальных факторов среды и является одним из компонентов стресс-реакции У многих растений свободный пролин накапливается в ответ на разнообразные стрессы, биотические и абиотические, такие как засоление, дефицит воды, неблагоприятные температуры, нехватка питания или УФ-излучение. Для пролина характерна высокая скорость аккумуляции в ответ на действие экстремального фактора, а также относительная неспецифичность ряда биологических эффектов, что свойственно для всех защитных систем стресс-реакции. Накопление пролина может происходить вследствие ингибирования его распада, усиленного синтеза, подавленного использования для синтеза белка или гидролиза белков.

Стресс-толерантный эффект пролина в растениях носит мультинаправленный (полифункциональный) характер. Это является одной из

причин способности пролина повышать выживаемость растений в условиях действия стрессоров различной физической природы и тем самым выполнять роль одного из компонентов общих клеточных защитных систем.

Обработка составами приводила к активации синтеза пролина в листьях гороха, выращенных и в нормальных условиях, и при гипертермии, в среднем на 10–15%.

Обработка составами и выращивание в гипертермических условиях вызвали возрастание площади листьев в среднем на 25–30%. При этом вес листьев не менялся. Кроме того, показана сильная корреляция между площадью и содержанием пролина.

Другой изучаемый морфометрический показатель – это степень инвариантности листовой пластинки, то есть неизменности изображения листа относительно его оси симметрии. Обработка М/Э и М/Э+СК вызывала снижение степени инвариантности соответственно на 13% и 17% по сравнению с контрольным образцом. В условиях гипертермии наблюдалось увеличение показателя примерно на 15% в обработанных образцах.

С одной стороны, пролин является эффективным антиоксидантом, а с другой – проявляет

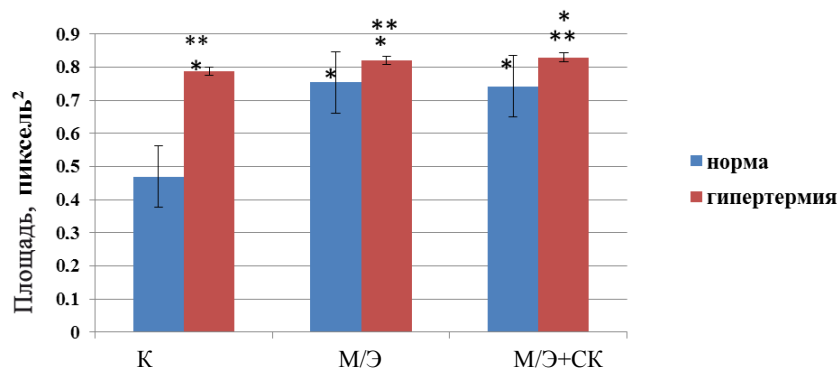


Рис. 4. Площадь листьев гороха после обработки составами с микроэлементами и салициловой кислотой в условиях гипертермии

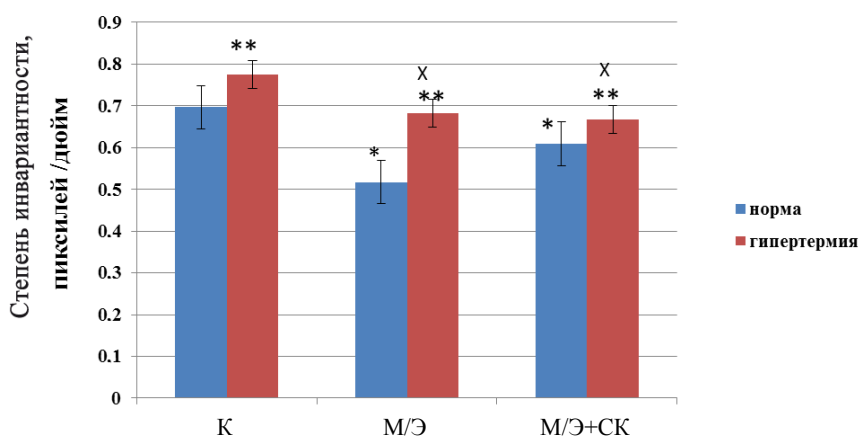


Рис. 5. Степень инвариантности листьев гороха после обработки составами с микроэлементами и салициловой кислотой в условиях гипертермии

осмопротекторные свойства, и его накопление после обработки листьев составами могло обуславливать усиление роста растяжением, т.к. обработка составами приводила к росту средней площади листовых пластинок в среднем на 20%. И гипертермия, и микроэлементные составы, изменяя метаболические процессы, вызывали изменение хода развития листовой пластинки, уменьшая степень ее инвариантности.

Таким образом, обработка растений составами с микроэлементами сдерживало окислительные процессы в липидной фракции клеточных мембран при выращивании растений в условиях хронической гипертермии и усиливало накопление пролина. Введение в состав салициловой кислоты приводило к усилению протекторного эффекта микроэлементного состава.

Список литературы

1. Веселов А.П. Математическая модель возможного триггера обратимого включения режима стресса у растений // Физиология растений. 2001. Т. 48. № 1. С. 124–131.

2. Пахомова В.М. Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений // Цитология. 1995. Т. 37. Вып. 1–2. С. 66–87.

3. Курганова Л.Н., Веселов А.П., Сеницына Ю.В., Еликова Е.Н. Продукты перекисного окисления липидов как возможные посредники между воздействием повышенной температуры и развитием стресс-реакций у растений // Физиология растений. 1999. Т. 46. № 2. С. 276–282.

4. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.

5. Пестова Е.Л., Абрамова Н.А., Курганова Л.Н., Веселов А.П. Влияние салициловой кислоты на перекисный гомеостаз хлоропластов гороха при тепловом шоке // Вестник Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. 2006. Вып. 1. С. 84–87.

6. Вовчук С.В., Адамовская В.Г., Левицкий А.П., Молодченкова О.О. Изменение белок-протеинкиназного комплекса озимой пшеницы под действием салициловой кислоты // Физиология и биохимия культурных растений. 1997. Т. 29. С. 363–369.

7. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 159 с.

8. Chen Z., Iyer S., Caplan A. Differential accumulation of salicylic acid sensitive catalase in different rice tissues // Plant Physiol. 1997. V. 114. P. 193–201.

9. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Мусатенко Л.И. Участие пероксидазы и супероксид-дисмутазы в усилении генерации активных форм кислорода колеоптилями пшеницы при действии салициловой кислоты // Физиология и биохимия культурных растений. 2010. Т. 42. № 3. С. 210–217.

BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN *PISUM SATIVUM* L. GERMS AFTER MICROELEMENTS AND SALICYLIC ACID TREATMENT FOLLOWED BY HYPERTHERMIA

R.N. Fazilov, E.V. Stepshina, E.O. Polovinkina

The effect of foliar treatment with microelements and salicylic acid is studied on plant stress tolerance under lasting hyperthermia. Microelement treatment has been found to inhibit oxidative processes in the lipid fraction of cell membranes and enhance the accumulation of proline under conditions of chronic hyperthermia whereas salicylic acid reinforced protecting action of microelements.

Keywords: stress, microelements, salicylic acid, lipid peroxidation, proline, chronic hyperthermia.

References

1. Veselov A.P. Matematicheskaja model' vozmozhnogo triggera obratimogo vkljuchenija rezhima stressa u rastenij // Fiziologija rastenij. 2001. T. 48. № 1. S. 124–131.
2. Pahomova V.M. Osnovnye polozhenija sovremennoj teorii stressa i nespecificheskij adaptacionnyj sindrom u rastenij // Citologija. 1995. T. 37. Vyp. 1–2. S. 66–87.
3. Kurganova L.N., Veselov A.P., Sinicya Ju.V., Elikova E.N. Produkty perekisnogo okisle-nija lipidov kak vozmozhnye posredniki mezhdju vozdejstviem povyshennoj temperatury i razvitiem stress-reakcij u rastenij // Fiziologija rastenij. 1999. T. 46. № 2. S. 276–282.
4. Tarchevskij I.A. Signal'nye sistemy kletok rastenij. M.: Nauka, 2002. 294 s.
5. Pestova E.L., Abramova N.A., Kurganova L.N., Veselov A.P. Vlijanie salicilovoj kisloty na perekisnyj gomeostaz hloroplastov goroha pri teplovom shoke // Vestnik Nizhegorodskogo un-ta im. N.I. Lobachevskogo. 2006. Vyp. 1. S. 84–87.
6. Vovchuk S.V., Adamovskaja V.G., Levickij A.P., Molodchenkova O.O. Izmenenie belok-proteinkinaznogo kompleksa ozimoj pshenicy pod dejstviem salicilovoj kisloty // Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij. 1997. T. 29. S. 363–369.
7. Shakirova F.M. Nespecificheskaja ustojchi-vost' rastenij k stressovym faktoram i ee reguljacija. Ufa: Gilem, 2001. 159 s.
8. Chen Z., Iyer S., Caplan A. Differential accumulation of salicylic acid sensitive catalase in different rice tissues // Plant Physiol. 1997. V. 114. P. 193–201.
9. Kolupaev Ju.E., Karpec Ju.V., Jastreba T.O., Musatenko L.I. Uchastie peroksidazy i superoksid-dismutazy v usilenii generacii aktivnyh form kisloroda koleoptiljami pshenicy pri dejstvii salicilovoj kisloty // Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij. 2010. T. 42. № 3. S. 210–217.