

УДК 581.151

DOI: 10.31040/2222-8349-2022-0-1-70-75

ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН И УРОЖАЙНОСТЬ РАСТЕНИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

© А.В. Якунина, Ю.В. Сеницына, Е.К. Крутова

В последнее время климат становится все более нестабильным, что приводит к нарушению баланса природных систем. Температурные аномалии и засухи вызывают стресс у растений. Поэтому использование препаратов – регуляторов роста, повышающих устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды, является перспективной технологией в современном сельском хозяйстве. Цель исследования – изучение влияния фитогормона эпибрасинолида на урожайность растений гороха и показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ). Растения гороха выращивали в полевых условиях, одну группу растений обрабатывали фитогормонами на стадии семян, другую – на стадии посевов. Для обработки семян использовали эпибрасинолид в концентрации 10^{-8} М, для обработки посевов – в концентрации 10^{-9} М. Контрольные растения обрабатывали соответствующим количеством воды. Измеряли такие параметры, как содержание диеновых конъюгатов, оснований Шиффа, биологическую урожайность, рассчитывали индекс стабильности мембран. Исследуемый фитогормон повышал биологическую урожайность гороха как при обработке семян, так и при обработке посевов. Обработка семян гороха препаратом эпибрасинолида не повлияла на содержание продуктов ПОЛ, однако при обработке посевов эпибрасинолидом повышалось содержание оснований Шиффа. Индекс стабильности мембран снизился на 1% при обработке посевов. Эпибрасинолид может быть использован для повышения урожайности растений гороха, более целесообразна предпосевная обработка семян.

Ключевые слова: эпибрасинолид, перекисное окисление липидов, урожайность, устойчивость, горох посевной.

Введение. Растительные организмы обладают широким спектром защитно-приспособительных реакций, способствующих развитию их устойчивости к разнообразным стрессовым факторам внешней среды. Рассмотрение совокупности адаптивных процессов, развивающихся в растениях в ответ на повреждающие воздействия, позволяет выявить общие неспецифические физиолого-биохимические защитные реакции, к числу которых можно отнести сдвиги в гормональном балансе, которые приводят к изменениям структуры и функции клеток и способствуют переключению функциональной активности клеток в нормальных условиях на так называемые стрессовые подпрограммы. К их проявлениям можно отнести снижение активности процессов метаболизма, которое, однако, сопровождается индукцией образования целого

ряда соединений, необходимых для сохранения целостности клеточных структур и жизненного потенциала растительного организма в неблагоприятных условиях. Важную роль в реализации ответа на стрессовое воздействие играют фитогормоны. Они способны в крайне низких концентрациях регулировать активность метаболических процессов на высоком уровне, индуцируя при этом устойчивость различных культур к широкому спектру стрессовых воздействий и поддерживая в этих условиях высокую продуктивность растений. Поэтому в растениеводстве актуально использование фитогормонов, в спектре физиологического действия которых проявляется четко выраженный антистрессовый эффект [1].

Брасиностероиды стимулируют устойчивость растений к стрессам, в том числе, к засухе,

ЯКУНИНА Анастасия Вадимовна, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: yakunina.anastasia@gmail.com

СИНИЦЫНА Юлия Витальевна – к.б.н., Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: jsin@inbox.ru

КРУТОВА Елена Константиновна – к.б.н., Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, e-mail: elena.krutova@mail.ru

засолению, грибным заболеваниями. В настоящее время препараты на основе брассиностероидов используются в сельском хозяйстве для повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных растений. Одним из таких препаратов является «Эпин-экстра», действующим веществом которого является эпибрассинолид, идентичный природному растительному гормону 24-эпибрассинолиду. Препарат оказывает на растительный организм стимулирующее и защитное воздействие, которое приводит к увеличению урожайности и повышению качества продукции [2]. Эффективность защитного действия фитогормона зависит от способа его применения. Так, более продуктивными способами обработки растений эпибрассинолидом являются предварительное замачивание семян и внекорневая подкормка по сравнению с методом корневого внесения [3]. Предполагается, что влияние брассиностероидов на устойчивость растений к холоду и засолению связано с его действием на структуру и функции мембран. Увеличение под влиянием брассиностероидов устойчивости к охлаждению и аноксии связывают с защитой целостности мембран и мембраносвязанных структур, в том числе ядерных. Эпибрассинолид предотвращает нарушение ультраструктуры клеток мезофилла листа в условиях засоления среды [1]. Эпибрассинолид поддерживает или повышает рост и урожай растений за счет увеличения скорости ассимиляции углерода, поддержания баланса между активными формами кислорода (АФК) и антиоксидантами. В стрессовых условиях метаболизм липидов сильно нарушается, и чрезмерное производство АФК приводит к высокому перекисному окислению липидов (ПОЛ). Продукты ПОЛ могут являться как индукторами, так и первичными медиаторами стресса как особого состояния клетки, который может привести к повышению ее устойчивости. Эпибрассинолид – эффективный фитогормон, который активирует антиоксидантную систему (с одной стороны) и защищает и улучшает метаболизм липидов в клетках (с другой стороны). Эпибрассинолид является регулятором фосфолипаз и увеличивает производство фосфатидной кислоты. Фосфолипазы гидролизуют липиды мембран с образованием вторичных мессенджеров, необходимых для регуляторной передачи сигналов. Фосфолипазы также способствуют общему липидному метаболизму [3].

Обработка эпибрассинолидом имеет положительное влияние на растения, особенно в ус-

ловиях стресса. Так, в растениях коровьего гороха экзогенное применение 24-эпибрассинолида в условиях засухи усиливало поглощение активных форм кислорода, что сопровождалось повышенной активностью антиоксидантных ферментов. Обработка голубиногороха 24-эпибрассинолидом при водном дефиците снижала перекисное окисление липидов на 31% и содержание пероксида водорода на 42%, что связано с накоплением супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы [3]. Защитный эффект эпибрассинолида при низко и высокотемпературном стрессе у растений рапса проявлялся за счет повышения уровня пролина и снижения содержания малонового диальдегида – одного из продуктов ПОЛ [4].

Целью работы было определить влияние эпибрассинолида на урожайность растений гороха и на содержание продуктов перекисного окисления липидов, а именно содержание диеновых конъюгатов и оснований Шиффа.

Материалы и методы. Растения гороха посевного (*Pisum sativum* L.) сорта Альбумен выращивали в полевых условиях на делянках площадью 200 м². Делянки располагались на опытном поле НГСХА в п. Новинки Нижегородской области. Закладка опытных делянок проводилась согласно методике полевого опыта по Доспехову [5]. Норма высева семян гороха на делянки с учетом их всхожести и чистоты составила 1.02 млн шт. семян на 1 га. Масса семян гороха на одну делянку – 4.6 кг.

Растения разделили на две группы: одни обрабатывались раствором эпибрассинолида (в форме препарата «Эпин-Экстра») на стадии семян, другие – на стадии посевов. Семена гороха кратковременно заливали раствором эпибрассинолида в концентрации 10⁻⁸М до полного смачивания семян, затем высушивали до воздушно-сухого состояния и высевали в почву. Семена контрольных растений замачивали в эквивалентном количестве воды. У другой группы растений гороха на стадии формирования четырех листьев проводили однократное опрыскивание всех посевов делянки 200 м² эпибрассинолидом в концентрации 10⁻⁹М до полного смачивания листовой поверхности. Контролем служили растения, обработанные эквивалентным количеством воды. Концентрации растворов эпибрассинолида выбраны на основании данных предварительного эксперимента [6].

Через две недели после обработки посевов фитогормонами проводили определение биохимических параметров в листьях растений гороха всех экспериментальных групп. С каждой делянки бережно выкапывали по 20 растений таким образом, чтобы не повредить корневую систему, затем растения помещали во влажную закрытую камеру и в течение 40 мин доставляли в лабораторию. Для исследования использовали листья третьего и четвертого яруса, считая сверху. Исследования проводились в пяти биологических повторностях. Все растения находились на вегетативной стадии роста.

Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по накоплению продуктов ПОЛ, а именно диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ) соответственно. Принцип метода установления содержания первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов – основан на поглощении липидным экстрактом монокроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра при 233 нм [7]. Флуоресценция оснований Шиффа обусловлена легко возбуждаемой шести-π-электронной конъюгированной системой 1-амино-3-иминопропеновых групп, имеющих характерные максимумы возбуждения и испускания флуоресценции при 360 нм и 440 нм соответственно. По содержанию оснований Шиффа можно судить о конечных этапах ПОЛ [8]. Содержание продуктов ПОЛ выражали в единицах оптической плотности на грамм сухого веса: диеновых конъюгатов – $E_{233}/г$ сухого веса, оснований Шиффа – $E_{440}/г$ сухого веса. Стабильность мембран определяли по выходу электролитов с помощью кондуктометрического метода анализа, основанного на измерении удельной электропроводности анализируемого раствора [9]. Индекс стабильности мембран (ИСМ) рассчитывали по формуле:

$$\text{ИСМ} (\%) = (1 - [(C_1 - C_0) / (C_2 - C_0)]) \times 100,$$

где C_0 – электропроводимость воды (мкСм); C_1 – электропроводимость раствора до кипячения; C_2 – электропроводимость раствора после кипячения.

По окончании эксперимента оценивали биологическую урожайность (урожайность на корню) – количество зерна, на каждом гектаре поля перед началом уборки. Для этого за 1–2 дня до начала уборки с каждой делянки отбирали по 4 снопа с площади 0.25 м^2 , с каждого снопа измеряли 25 растений гороха, согласно методике снопового анализа. Определяли вес

семян гороха в сумме со всех 4 снопов (с 1 м^2) и определяли биологическую (сноповую) урожайность гороха с 1 га [10].

Для каждой экспериментальной группы рассчитывали среднее значение, ошибку среднего. Статистическую значимость различий определяли по коэффициенту Стьюдента. Минимальное количество измерений каждого показателя для каждой группы – 5 [11]. Для биологической урожайности рассчитывали наименьшую существенную разницу при 5%-ном уровне значимости (НСР_{05}) по формуле:

$$\text{НСР}_{05} = t_{05} * S_d,$$

где S_d – ошибка разности средних, $S_d = \sqrt{(2S^2/n)}$ [5].

Результаты и их обсуждение. Нами было отмечено положительное влияние эписбрассинолида на урожайность растений гороха. Так, при обработке семян эписбрассинолид повышал биологическую урожайность растений гороха на 23%, и на 21% при обработке посевов (табл. 1).

Оба варианта обработки растений гороха эписбрассинолидом оказывали благоприятный эффект на урожайность, причем при обработке семян этот эффект был даже выше, чем при обработке посевов. Результаты исследования согласуются с литературными данными, полученными на других бобовых культурах. Так, обработка посевов гороха сорта Агат эписбрассинолидом приводила к повышению урожайности на 8.2% и увеличению содержания сырого белка в семенах на 1.1% по сравнению с необработанным контролем [12]. Предпосевная обработка гороха «Эпином-Экстра» повысила всхожесть семян на 40%, а опрыскивание растений в фазу бутонизации – начала цветения привело к повышению урожайности с 1.30 до 1.45 т/га (на 11.5%) [13]. Применение препарата «Эпина-Экстра» на фоне минеральных удобрений способствовало повышению урожайности зеленой массы люпина узколистного. Наибольшее влияние препарат оказал на фоне калийного (K_{120}) и полного минерального ($\text{N}_{60}\text{P}_{90}\text{K}_{120}$) удобрения. Сбор зеленой массы люпина, по сравнению с аналогичными вариантами, в которых его не применяли, увеличился на 13.0–13.7% [2].

Поскольку возможный положительный эффект эписбрассинолида на урожайность связывают с его защитным действием на мембраны клеток, определяли содержание продуктов ПОЛ и индекс стабильности мембран.

Т а б л и ц а 1

Влияние эпибрасинолида на биологическую урожайность гороха

Вариант опыта	Биологическая урожайность при обработке семян, т/га	Биологическая урожайность при обработке посевов, т/га
Контроль	2.19	2.35
Эпибрасинолид	2.70*	2.85*
НСР ₀₅	0.38	0.32

Примечание. * – различия статистически значимы, разница превышает НСР₀₅.

Т а б л и ц а 2

Влияние эпибрасинолида на содержание диеновых конъюгатов, оснований Шиффа и индекс стабильности мембран у растений гороха

Вариант опыта	ДК, E ₂₃₃ /г сухого веса	ОШ, E ₄₄₀ /г сухого веса	ИСМ, %
Обработка семян			
Контроль	7.74±0.55	12.98±0.51	83.72±3.84
Эпибрасинолид	8.58±0.33	12.94±0.25	89.83±0.18
Обработка посевов			
Контроль	10.84±2.23	12.68±0.82	90.80±0.49
Эпибрасинолид	9.37±2.32	15.23±0.71*	89.81±0.19*

Примечания: * – различия с контролем статистически значимы, $p < 0.05$; ДК – диеновые конъюгаты, ОШ – основания Шиффа, ИСМ – индекс стабильности мембран.

Обработка семян эпибрасинолидом не вызвала изменений в накоплении продуктов ПОЛ (табл. 2). Обработка посевов способствовала повышению содержания оснований Шиффа на 20% по сравнению с контролем. Если сравнивать данные групп «семена» и «посевы», то можно отметить что содержание диеновых конъюгатов при обработке семян было ниже, чем при обработке посевов. Содержание оснований Шиффа было стабильным и не зависело от способа обработки растений.

Влияние препарата эпибрасинолида на индекс стабильности мембран зависело от типа обработки. Обработка семян эпибрасинолидом способствовала некоторому увеличению индекса стабильности мембран. В случае обработки посевов этот показатель снизился на 1%.

Результаты, полученные в ходе нашего исследования, вполне согласуются с работами других исследователей. Так, обработка брасиностероидами вызывала снижение проницаемости мембран и процессов ПОЛ у растений перечной мяты в условиях солевого стресса. Аналогичные результаты наблюдались для фасоли и клубники, причем эффективной в снижении ПОЛ оказалась внекорневая под-

кормка брасиностероидом в условиях засоления [14].

Первичной реакцией растения на стресс на клеточном уровне является изменение окислительного потенциала, связанное с избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК). С одной стороны, АФК являются эндогенными сигнальными молекулами, участвующими в развитии устойчивости растения к стрессору, с другой – высокая реакционная способность АФК обуславливает их токсичность для клеток. В частности, действие АФК на клеточные мембраны проявляется в индукции процессов перекисного окисления липидов и дезтерификации жирных кислот, что приводит к увеличению проницаемости мембран для некоторых метаболитов и ионов [15]. Проницаемость клеточных мембран является ранним показателем изменения физиологических функций растительного организма, поэтому ее изменение может служить критерием оценки устойчивости тканей растений к абиотическим стрессорам [9]. Поскольку мембраны устойчивых растений меньше повреждаются при стрессе, то можно ожидать, что системы регуляции проницаемости и поддержания гомео-

стаза у них работают эффективнее, чем у неустойчивых.

На основании полученных результатов можно сделать заключение, что обработка семян гороха эпибрасинолидом способствует повышению устойчивости к окислительным процессам. В этом случае растения становятся устойчивыми к действию неблагоприятных факторов окружающей среды, и даже в стрессовых условиях способны давать большой урожай, по сравнению с контрольными растениями. В случае обработки посевов стабильность мембран напротив, немного снижается, вероятно, вследствие некоторого усиления окисления мембранных липидов, однако такое снижение в целом не оказывает негативного эффекта, о чем свидетельствует значительное повышение урожайности растений гороха.

Выводы. Таким образом, можно отметить положительное действие эпибрасинолида на урожайность растений гороха вне зависимости от типа обработки. На показатели устойчивости растений лучшее влияние оказала обработка семян эпибрасинолидом. Так, при обработке семян гороха наблюдалась тенденция к увеличению индекса стабильности мембран, и содержание продуктов ПОЛ при этом не менялось. Обработка посевов препаратом эпибрасинолида вызывала увеличение содержания оснований Шиффа и незначительно снижала индекс стабильности мембран. В сельском хозяйстве желательно применять эпибрасинолид для повышения урожайности гороха, более целесообразна предпосевная обработка семян.

Литература

1. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
2. Пашутко В.В., Шаповалов В.Ф., Бельченко С.А., Яговенко Г.Л. Действие удобрений и препарата Эпин-Экстра на урожайность и качество зеленой массы люпина в условиях радиоактивного загрязнения // Земледелие. 2016. № 8. С. 32–35.
3. Tanveer M., Shahzad B., Sharma A., Khan E.A. 24-Epibrassinolide application in plants: an implication for improving drought stress tolerance in plants // Plant Physiology and Biochemistry. 2019. V. 135. P. 295–303.
4. Pradhan S.R., Gupta R.C., Kumar M. Effect of 24-Epibrassinolide on Lipid Peroxidation and Proline in three Brassica species under temperature stresses // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2013. V. 9. № 3. P. 376–384.

5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.

6. Шерстнева О.Н., Сурова Л.М., Сеницына Ю.В., Агеева М.Н., Середнева Я.В., Воденев В.А., Сухов В.С. Влияние фитогормонов и их аналогов на прорастание семян и морфометрические показатели проростков // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=23287>

7. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической диагностике. Минск: Беларусь, 2000. 896 с.

8. Bidlack W.R., Tappel A.L. Fluorescent products of phospholipids during lipid peroxidation // Lipids. 1973. V. 8. № 4. P. 203–207.

9. Лукаткин А.С., Гришенкова Н.Н. Определенные устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал. 2005. № 1. С. 3–11.

10. Опытное дело в полеводстве / под ред. Г.Ф. Никитенко. М.: Россельхозиздат, 1982. 190 с.

11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.

12. Цыганов А.Р., Мишура О.И. Применение микроудобрений, биопрепаратов и регуляторов роста при возделывании гороха // Плодородие. 2009. № 4. С. 15–17.

13. Вакуленко В.В. Эпин-Экстра и Циркон на защите урожая гороха // Картофель и овощи. 2016. № 4. 11 с.

14. Özkan Çoban, Nilgün Göktürk Baydar. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress // Industrial Crops and Products. 2016. V. 86. P. 251–258.

15. Спивак Е.А. Генерация активных форм кислорода, перекисное окисление липидов и проницаемость клеточных мембран в листьях проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при засухе // Вестник БГУ. 2010. Сер. 2. № 1. С. 51–54.

References

1. Shakirova F.M. Nonspecific plant resistance to stress factors and its regulation, 2001, 160 p.
2. Pashutko V.V., Shapovalov V.F., Belchenko S.A., Yagovenko G.L. The effect of fertilizers and the Epin-Extra preparation on the yield and quality of lupine green mass in conditions of radioactive contamination // Agriculture, 2016, no. 8, pp. 32-35.
3. Tanveer M., Shahzad B., Sharma A., Khan E. A. 24-Epibrassinolide application in plants: an implication for improving drought stress tolerance in plants // Plant Physiology and Biochemistry, 2019, vol. 135, pp. 295–303.
4. Pradhan S.R., Gupta R.C., Kumar M. Effect of 24-Epibrassinolide on Lipid Peroxidation and Proline in three Brassica species under temperature stress // Journal

of Stress Physiology & Biochemistry, 2013, vol. 9, no. 3, pp. 376-384.

5. Dospelkov B.A. Field experiment methods. Moscow: Agropromizdat, 1985. 351 p.

6. Sherstneva O.N., Surova L.M., Sinitsyna Yu.V., Ageeva M.N., Seredneva Ya.V., Vodeneev V.A., Sukhov V.S. Influence of phytohormones and their analogs on seed germination and morphometric parameters of seedlings // Modern problems of science and education, 2015, no. 6, URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23287>

7. Kamyshnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical diagnostics. Minsk: Belarus. 2000. 896 p.

8. Bidlack W.R., Tappel A.L. Fluorescent products of phospholipids during lipid peroxidation // Lipids. 1973. vol. 8. no. 4. pp. 203-207.

9. Lukatkin A.S., Grishenkova N.N. Determination of the resistance of plant tissues to abiotic stresses using the conductometric method // Povolzhskiy ecological journal, 2005, no. 1, pp. 3-11.

10. Experiments in field cultivation / ed. G.F. Nikitenko. Moscow: Rosselkhozizdat, 1982, 190 p.

11. Glantz S. Biomedical statistics. M.: Practice, 1998, 459 p.

12. Tsyganov A.R., Mishura O.I. The use of micronutrient fertilizers, biological products and growth regulators in the cultivation of peas // Fertility, 2009, no. 4, pp. 15-17.

13. Vakulenko V.V. Epin-Extra and Zircon to protect the harvest of peas // Potatoes and vegetables, 2016, no. 4, 11 p.

14. Özkan Çoban, Nilgün Göktürk Baydar. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress // Industrial Crops and Products, 2016, vol. 86, pp. 251-258.

15. Spivak E.A. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and permeability of cell membranes in the leaves of barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.) during drought // Vestnik BSU. The Belarusian State University, 2010, vol. 2, no. 1, pp. 51-54.



THE EFFECT OF EPIBRASSINOLIDE ON PERMEABILITY OF MEMBRANES AND YIELD OF THE PEA PLANTS (*PISUM SATIVUM* L.)

© A.V. Yakunina¹, Yu.V. Sinitsina¹, E.K. Krutova²

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod
23, prospekt Gagarina, 603950, Nizhny Novgorod, Russian Federation

²Nizhny Novgorod State Agricultural Academy,
97, prospekt Gagarina, 603107, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Recently, the climate has become increasingly unstable, it leads to an imbalance of natural systems. Temperature anomalies and droughts cause stress in plants. Therefore, the using of growth regulators that increase the resistance of plants to adverse environmental factors has a promising direction. The purpose of the research was to study the influence of the phytohormone epibrassinolide on yield and lipid peroxidation (LPO) of pea plants. Pea plants were grown in the field, one group of plants was treated with phytohormones at the seed stage, the other – at the crop stage. For seed treatment epibrassinolide was used at a concentration of 10^{-8} M, for crop treatment – at a concentration of 10^{-9} M. Control plants were treated with an appropriate amount of water. The content of diene conjugates Schiff bases and biological yield were measured and the membrane stability index was calculated. Researched phytohormone increased the biological yield of peas both during seed and crop treatment. The treatment of pea seeds with epibrassinolide did not affect the content of LPO products, however for crop treatment epibrassinolide increased the content of Schiff bases. Membrane stability index decreased by 1% during crop treatment. Epibrassinolide can be used to increase the yield of pea plants and pre-sowing seed treatment is more expedient.

Key words: epibrassinolide, lipid peroxidation, yield, resistance, pea plant.