



ISSN 1818-8575

3/2012

ВЄСЦІ БДПУ

РЕПОЗИТОРІЙ БДПУ



Серія 3

ФІЗИКА

МАТЕМАТИКА

ІНФОРМАТИКА

БІОЛОГІЯ

ГЕОГРАФІЯ

УДК 582.929

Н.В. Пушкина,
магистрант кафедры ботаники
и основ сельского хозяйства БГПУ;

Ж.Э. Мазец,
кандидат биологических наук,
доцент кафедры ботаники
и основ сельского хозяйства БГПУ;

Е.В. Спиридович,
кандидат биологических наук,
заведующий лабораторией прикладной биохимии
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»;

В.А. Карпович,
кандидат физико-математических наук,
заведующий лабораторией радиофизических исследований
НИИ ЯП БГУ

ОСОБЕННОСТИ ПРЕДПОСЕВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОТДЕЛЬНЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ *LEONURUS CARDIACA* (L.)

Введение. В настоящее время актуальным вопросом современной биологической науки является поиск новых технологий, имеющих широкую сферу применения, в том числе основывающихся на воздействии ранее мало изученных факторов. К категории таких факторов относят электромагнитное поле сверхвысокочастотного диапазона (ЭМП СВЧ) и его воздействие на биологические объекты. Настоящая тема представляет большой научный и практический интерес и может обрести экономическую значимость при ее широком внедрении в сельском хозяйстве. Достоинства применения низкоинтенсивного микроволнового электромагнитного поля в сельском хозяйстве, пищевой промышленности, медицине, фармакологии в настоящее время определены достаточно ясно. Перспективным экологически безопасным технологическим приемом предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур является низкоэнергетическая биофизическая микроволновая предпосевная обработка семян [1–2]. В основе этого способа лежит резонансное взаимодействие электромагнитных волн миллиметрового диапазона с клеточными структурами, которое оказывает положительное влияние на иммунный статус организма,

восстанавливает нарушенные вследствие внутрисеменной инфекции внутриклеточные связи и функции, активизирует процесс биосинтеза и способствует ускоренному делению клеток, а также к восстановлению связей и функций, нарушенных из-за болезней [3].

Экспериментально установлено, что семена лекарственных культур имеют относительно низкую всхожесть и энергию прорастания из-за биологической разнокачественности посевного материала. В связи с этим данная отрасль растениеводства требует использования современных методов и технологий возделывания для увеличения адаптационного потенциала лекарственных растений.

Поэтому целью данной работы является исследование влияния различных режимов низкоинтенсивного электромагнитного поля сверхвысокочастотного диапазона на всхожесть, энергию прорастания семян, морфометрические параметры растений, активность антиоксидантных ферментов (АФК) пероксидазы и аскорбатпероксидазы пустырника сердечного (*Leonurus cardiac L.*) в лабораторных и вегетационных условиях. Суть данного воздействия заключается в том, что семена обрабатываются внешним источником электромагнитного излучения волн

различной длины, мощности и времени воздействия, так как эффект «информационного» воздействия имеет четко выраженный резонансный характер и растительные объекты реагируют на определенную резонансную частоту. Такой подход устраняет необходимость повторной (часто неоднократной) электромагнитной обработки посевов.

Объекты и методы исследования.

Объектом исследования являются семена *Leonurus cardiac* (L.) сорта «рядовой». Данная культура является ценным лекарственным растением и широко применяется в традиционной и научной медицине в качестве седативного средства, аналогичного препаратам из валерианы, а также как эффективное средство для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, не вызывающее побочных эффектов. Используется пустырник и для лечения эпилепсии, базедовой болезни, тромбозов, желудочно-кишечных заболеваний. В траве пустырника сердечного содержатся флавоноидные гликозиды – рутин, квинквелозид, космосин, 7-глюкозид кверцетина, гиперозид; эфирное масло (0,05 %), дубильные вещества (до 2 %), сапонины. В начале цветения в траве обнаруживаются алкалоид (стахидрин), горькие и сахаристые вещества, следы ретинола и аскорбиновой кислоты, паракумариновая кислота. Экспериментально установлено, что растение не токсично и препараты его обладают успокаивающим действием на центральную нервную систему, замедляют ритм сердца, увеличивают силу сердечных сокращений и понижают артериальное давление; обладают гипотензивным и седативным свойствами [4].

В ходе экспериментов было исследовано влияние электромагнитного поля сверхвысокочастотного диапазона из расчета на объем семян. Воздействие проводилось в различных частотных режимах: режим 1 (частота обработки 53,57–78,33 ГГц, время обработки 20 минут; мощность воздействия 10 мВт); режим 2 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 12 минут, мощность воздействия 10 мВт) и режим 3 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 8 минут, мощность воздействия 10 мВт). Обработка проводилась в Научно-исследовательском институте ядерных проблем» БГУ [5].

Дальнейшие исследования проводились в условиях лабораторных и вегетационных опытов. Лабораторный эксперимент был заложен в трехкратной повторности для каж-

дого режима обработки и контроля. Семена проращивали в чашках Петри на увлажненной фильтровальной бумаге на протяжении 10 дней при температуре 20–21 °С. Каждая партия контрольных и опытных образцов содержала по 100 семян. Оценивали энергию прорастания на 7-й день онтогенеза, всхожесть и морфометрические показатели корней и проростков на 10-й день. Проросшими считались семена с зародышевым корешком более 0,5 см. Полученные результаты обрабатывались с помощью статистического пакета программ М. Excel и Statistica 6,0 [6].

Для проведения вегетационного опыта использовались сосуды Митчерлиха, наполненные землей, вместимостью 10 литров. В них было высеяно по 30 штук семян каждого режима обработки и контроля. Образцы из вегетационного опыта анализировались по активности ферментов: пероксидазы и аскорбатпероксидазы.

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7. донор: H_2O_2 -оксидоредуктаза) – один из наиболее распространенных растительных ферментов. По своей природе фермент является гемсодержащим гликопротеидом. Наличие большого числа изоферментов, разнообразие механизмов действия фермента, способность катализировать реакции пероксидазного и оксидазного окисления субстратов обуславливают способность пероксидазы выполнять самые разнообразные функции в живых организмах [7].

Пероксидаза – один из ключевых ферментов, контролирующих рост растений, их дифференциацию и развитие. Этот фермент участвует в формировании, реологии и лигнификации клеточных стенок, биосинтезе этилена, метаболизме индолил-3-уксусной кислоты, дыхании растений, защите тканей от поражения и инфекции патогенными микроорганизмами.

Пероксидазам растений свойственна уникальная полифункциональность, что обуславливается молекулярной разнокачественностью отдельных ее изоформ, разнообразием механизмов действия фермента, способностью катализировать реакции оксидазного и пероксидазного окисления субстратов [7]. В растительной клетке субстратная специфичность, очевидно, ограничена компартиментализацией фермента и его субстратов, а также микроокружением, которое не всегда может обеспечить оптимальные условия для реакций, катализируемых пероксидазой. Различия изоферментов пероксидазы растений в степени предпочтения к субстратам, структуре, оптимальным условиям, необходимым

для проявления максимальной активности, обуславливают выполнение ими различных физиологических функций [8].

Пероксидаза катализирует большинство реакций, протекающих во всех типах тканей. Для этого фермента отмечается видовая, органогенная, тканевая и внутриклеточная специфичность распределения изопероксидаз.

Пероксидаза является индуцибельным ферментом, индукторами которого могут быть разнообразные физические, химические и биологические факторы [9]. Поэтому для определения характера стрессовой реакции обработанных растений были проведены биохимические исследования, где в качестве маркера использовали фермент пероксидазу.

В самом начале ответной реакции растения, очень быстро реагируя на любой стресс, активируются основные пероксидазы как первый шаг ответа, а изменения, связанные с метаболизмом ауксина и этилена, индуцируют усиление синтеза кислых пероксидаз как второй, и более поздний, шаг ответа или защиты. Предполагаемая последовательность реакций, составленная по имеющимся данным, показывает, что только два гормона тесно связаны посредством пероксидазы с процессами ответа на различные нарушения – ауксин и этилен, регулирующие метаболизм растения в целом, активности пероксидазы на значительном расстоянии от пораженных клеток [9].

Аскорбатпероксидаза локализована в хлоропластах и является там главным ферментом, утилизирующим перекись водорода, так как хлоропласты, по-видимому, не содержат каталазы. Обнаружены нормальная и связанная с тилакоидной мембраной формы. Кроме того, две другие формы локализованы в мембранах глиоксисом и в цитоплазме. Фермент высокоспецифичен к аскорбату и быстро теряет активность в его отсутствие. В результате аскорбатпероксидазной реакции образуется монодегидроаскорбат-радикал (МДГАск), который восстанавливается до аскорбата (Аск) стромальной монодегидроаскорбатредуктазой. Тилакоидная монодегидроаскорбатредуктаза проводит эту реакцию не с помощью НАД(Ф)Н, а ферредоксина. При диспропорционировании монодегидроаскорбат-радикала возникает относительно стабильный продукт дегидроаскорбат (ДГАск), который переводится в аскорбиновую кислоту с участием фермента *дегидроаскорбатредуктазы*, при этом происходит окисление восстановленного глутатиона (ГШ) с образованием соответствующего дитиола (ГSSГ) [10].

В связи со всем вышесказанным пероксидаза и аскорбатпероксидаза были взяты в качестве ферментов, нейтрализующих активные формы кислорода (АФК), которые образуются в результате реакции на предпосевное физическое воздействие, и являющихся маркерами стрессовой реакции растений на внешнее воздействие. Кроме того, в литературе имеются сведения об использовании активности пероксидаз в качестве диагностического показателя устойчивости растений к стрессу [11–12].

Результаты и их обсуждение. В результате опытов был установлен избирательный характер действия ЭМП СВЧ диапазона в различных частотных режимах на всхожесть, энергию прорастания, морфометрические показатели и накопление пероксидазы и аскорбатпероксидазы в растениях *Leonurus cardiac* (L.) сорта «рядовой».

Критерии оценки выбирались не случайно, так как по всхожести и энергии прорастания судят о степени пригодности семян к посеву. Энергия прорастания семян тесно связана с их полевой всхожестью, предопределяет интенсивность роста, развития растений и их продуктивность, а также является надежным критерием их жизнеспособности в процессе длительного хранения.

Анализ лабораторного эксперимента по определению влияния ЭМП СВЧ *Leonurus cardiac* (L.) сорта «рядовой» показал, что режим 1 наиболее существенно активизирует ростовые процессы (энергию прорастания и всхожесть) по отношению к контролю (рисунок 1–2).

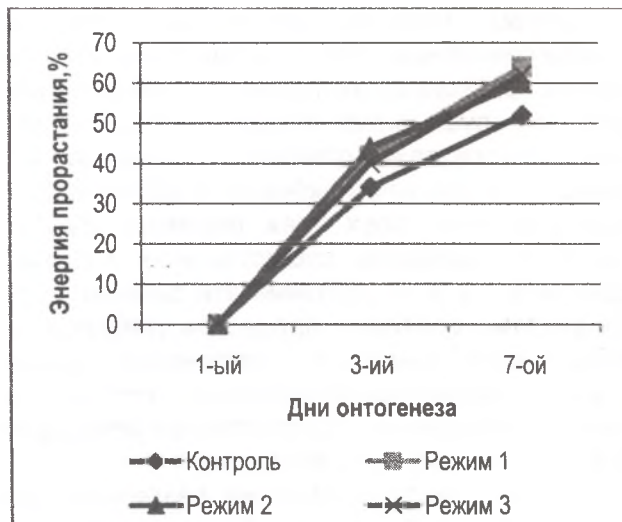


Рисунок 1 – Влияние различных режимов ЭМП СВЧ на энергию прорастания *Leonurus cardiac* (L.)



Рисунок 2 – Влияние различных режимов ЭМП СВЧ на всхожесть *Leonurus cardiac* (L.)

Установлено, что ЭМП СВЧ стимулирует ростовые процессы *Leonurus cardiac* (L.) на ювенильном этапе развития. Так, оценка морфометрических характеристик – длины и массы корней и проростков исследуемой культуры – на 10-й день онтогенеза показала, что у растений, прошедших предпосевную обработку, эти показатели выше контрольных показателей (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние различных режимов ЭМП СВЧ на морфометрические параметры *Leonurus cardiac* (L.) на 10-й день онтогенеза

Вариант	Длина, %		Масса, %	
	Корни	Проростки	Корни	Проростки
Контроль	100	100	100	100
Режим 1	121*	118*	114*	122*
Режим 2	108	112*	122*	109
Режим 3	115*	118*	108	109

* Данные достоверны при $P \leq 0.05$.

Анализ влияния различных режимов низкоинтенсивного электромагнитного излучения на пероксидазную активность 45-дневных растений пустырника показал, что в результате воздействия отмечено снижение активности и удельной активности пероксидазы под влиянием всех трех режимов (таблица 2), но особенно существенное в случае режимов 1 и 3. Сопоставив эти данные с показателями ростовых процессов (таблица 1), обнаружили заметное увеличение длины и массы надземной и подземной частей растений пустырника, обработанных режимами 1 и 3, по сравнению с контролем.

В ходе анализа влияния различных режимов ЭМП СВЧ на аскорбатпероксидазную активность 45-дневных растений пустырника выявлено, что в результате воздействия возрастает активность АПО во всех случаях обработки, но снижается удельная актив-

ность аскорбатпероксидазы под влиянием третьего режима (таблица 3), все остальные режимы ведут к повышению активности данного фермента. Установленная реакция активности АПО, вероятно, связана с ее переходом в относительно стабильный продукт дегидроаскорбат (ДГАск), а затем в аскорбиновую кислоту. Снижение удельной активности АПО в случае режима 3, возможно, и определяет несколько менее существенный сдвиг в ростовой активности по сравнению с контролем у растений, обработанных данным режимом в сравнении с режимом 1.

Таблица 2 – Влияние различных физических воздействий на общую и удельную активность пероксидазы в растениях *Leonurus cardiac* (L.)

№ п/п	Вариант опыта	Активность пероксидазы, Е/мл	Концентрация белка, мг/мл	Удельная активность пероксидазы, Е/мг белка
1	Контроль	1,23 ± 0,07	0,8 ± 0,016	1,54 ± 0,032
2	Режим 1	0,6 ± 0,044*	2,2 ± 0,034*	0,27 ± 0,047*
3	Режим 2	0,6 ± 0,052*	0,94 ± 0,027*	0,64 ± 0,029*
4	Режим 3	0,6 ± 0,042*	2,5 ± 0,116*	0,24 ± 0,044*

* Данные достоверны при $P \leq 0.05$.

Таблица 3 – Влияние различных режимов ЭМИ на общую и удельную активность АПО в растениях *Leonurus cardiac* (L.)

Вариант	Активность аскорбат-пероксидазы, Е/мл	Концентрация белка, мг/мл	Удельная активность аскорбат-пероксидазы, Е/мг белка
Контроль	444,8 ± 0,078	0,8 ± 0,016	556 ± 0,034
Режим 1	4355,1 ± 0,025*	2,2 ± 0,034*	1979,1 ± 0,065*
Режим 2	1303 ± 0,036*	0,94 ± 0,027*	1386,1 ± 0,087*
Режим 3	1183,7 ± 0,076*	2,5 ± 0,116*	473,48 ± 0,089*

* Данные достоверны при $P \leq 0.05$.

Таким образом, показано, что предпосевная микроволновая обработка значительно увеличивает энергию прорастания и всхожесть исследуемой культуры, активизирует ростовые процессы. Наибольший стимулирующий эффект на ростовые процессы на раннем этапе онтогенеза оказывает режим 1 ЭМП СВЧ. Вероятно, такой эффект обусловлен тем, что данный режим воздействия в диапазоне 53,57–78,33 ГГц вызывает изменения в структурно-динамических свойствах водной фазы семян *Leonurus cardiac* (L.), что может приводить к изменению гидрофильно-гидрофобного баланса в коллоидных системах и вызывать подобные сдвиги в активности ферментов.

Подводя итог проведенным биохимическим исследованиям, можно утверждать, что выявлена избирательная реакция растений на различные режимы электромагнитного воздействия. Снижение активности пероксидазы и повышение аскорбатпероксидазы при обработке отдельными режимами свидетельствует об отсутствии значительной стрессовой реакции на данный вид воздействия. Активность пероксидазы в данных случаях выступила как достоверный маркер стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабенко, А.А. СВЧ импульсная предпосевная обработка семян: дис. ... канд. техн. наук: 05.20.02 / А.А. Бабенко. – М., 1993. – 180 с.
2. Вербицкая, С.В. Предпосевная обработка семян фасоли озоном и магнитным полем: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.02.02 / С.В. Вербицкая. – Зерноград, 2001. – 181 с.
3. Девятков, Н.Д. Воздействие электромагнитных колебаний миллиметрового диапазона длин волн на биологические системы / Н.Д. Девятков, О.В. Бецкий, М.Б. Голант // Радиобиология. – 1981. – Т. XXXI. – Вып. 2.
4. Брем, А. Жизнь растений / А. Брем. – М.: ЭКСМО, 2010. – С. 717–718.
5. Karpovich, V.A. Application of microwave energy in modern biotechnologies / V.A. Karpovich, V.N. Rodionova, G.Ya. Slepyan // The Fourth International Kharkov Symposium «Physics and engineering of millimeter and sub-millimeter waves»: Symposium Proceedings / National Academy of Sciences of Ukraine. – Kharkov, 2001. – P. 909–910.
6. Алексейчук, Г.Н. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки / Г.Н. Алексейчук, Н.А. Ламан. – Минск, 2005. – 46 с.
7. Полифункциональность растительных пероксидаз и их практическое использование / Е. Р. Картасова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2000. – № 5. – С. 63–69.
8. Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов / В.В. Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 240 с.
9. Савич, И.М. Пероксидазы – стрессовые белки растений / И.М. Савич // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 107. – № 3.
10. Чиркова, Т.В. Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. – 244 с.
11. Ермакова А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермакова [и др.] // Л.: Агропромиздат. – 1987. – С. 41–45.
12. Nakano, Y. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts / Y. Nakano, K. Asada // Plant cell physiol. – 1981. – V. 22. – P. 867–880.

SUMMARY

The article concerns the peculiarities of the electromagnetic field influence in the microwave range on agronomic seed quality, growth, development and activity of some antioxidant enzymes of plants *Leonurus cardiac* (L.) cultivar "Private". Treatment was carried out at the Institute of Nuclear Problems, Belarusian State University. A selective impact of different modes of pre seed culture was revealed. The optimal exposure of the electromagnetic effects that enhance germination, vigor, activating growth processes of plants was set. Specific changes in peroxidase and ascorbate activity after the processing of the three modes of the low-intensity electromagnetic radiation on the study culture which determined the nature of growth processes were marked.

Поступила в редакцию 16.06.2012 г.