

УДК 581.1

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

М.Н. Комарова – лаборант I категории
кафедры ботаники и основ сельского хозяйства БГПУ;

Е.В. Спиридович – кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник отдела биохимии
и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси;

В.И. Горбачевич – младший научный сотрудник
отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси;

Е.А. Городецкая – кандидат технических наук, научный сотрудник
отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси;

В.В. Ажаронк – кандидат физико-математических наук, ведущий научный
сотрудник ГНУ «Институт физики им. Б.И. Степанова»

НАН Беларуси;

В.А. Карпович – кандидат физико-математических наук, ведущий научный
сотрудник НИУ «Институт ядерных проблем БГУ»;

А.А. Ермолович – младший научный сотрудник
НИУ «Институт ядерных проблем БГУ»

ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ LUPINUS ANGUSTIFOLIUS, ПОДВЕРГНУТЫХ ПЛАЗМЕННОЙ И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ОБРАБОТКЕ

Повысить качество и полевую всхожесть жизнеспособных семян можно различными способами воздействия на семена. Данные многочисленных исследований свидетельствуют о том, что различные виды воздействия на семена могут оказывать положительное влияние на активацию ростовых процессов растений. Поэтому в настоящее время в сельскохозяйственной практике достаточно широко применяются стимулирующие факторы, способствующие повышению энергии прорастания и полевой всхожести семенного материала.

Результатом проведенных в последние годы работ стало то, что положительное влияние на всхожесть, рост, развитие растений, а соответственно и на получаемый урожай и его качество оказывает обработка посевного материала различных сельскохозяйственных культур электромагнитными и плазменными методами.

Существует некоторая классификация, позволяющая условно разделить воздействие электромагнитных полей по характеру изменений, вызываемых в биологическом объекте. В первую очередь, это энергетическое воздействие, сопровождающееся ростом температуры и локального давления, а также появлением механических изменений в структуре биологической ткани. Следующий уровень –

функциональный, при котором энергия поля не приводит к заметному нагреву, но влияет на энзиматическую активность, конформационную динамику белков, возникновение в биологических структурах электрических или магнитоиндуцированных сил и вращающих моментов, инициирующих внутриклеточные процессы. Наконец, самый неопределенный уровень воздействия – информационный, когда внешний поток энергии электромагнитного поля может вызвать изменение алгоритма процессов жизнедеятельности. В этом случае действие поля накладывается на эндогенные ритмы растительных объектов, что в зависимости от условий и характера воздействия может привести как к стимуляции их роста, так и к его угнетению. В проведенных нами экспериментах заметный нагрев обрабатываемых семян отсутствовал. В связи с этим мы предполагаем, что наблюдаемые изменения агрономических качеств семян связаны с проявлением функционального уровня воздействия используемого в экспериментах высокочастотного электромагнитного поля [1, с. 143–145].

Для определения характера стрессовой реакции обработанных растений были проведены биохимические исследования, где в качестве маркера использовали фермент пероксидазу.

Пероксидазы широко распространены в животных и растительных клетках (могут на-

ходиться как в связанном с клеточной стенкой состоянии, так и в цитоплазме); они участвуют в фотосинтезе, энергетическом обмене, в трансформации пероксидов и веществ, чужеродных организму. Активность **пероксидазы** и изоферментный состав значительно изменяются при стрессовых состояниях, ранении, вирусном или микробном инфицировании организма.

Используют **пероксидазы** в аналитических целях, а также в иммуноферментном анализе. Данные по пероксидазной активности учитывают при селекции растений (чем выше эта активность, тем устойчивее к инфекции растения). Однако до настоящего времени нет единой теории о связи всех многообразных реакций, в которых участвует пероксидаза [2, с. 1731–1740].

Под воздействием различных факторов на растения в их клетках формируется уникальный стрессовый набор изоферментов. В устойчивых растительных организмах данные изоформы образуют оптимальное для нормального функционирования соотношение белков с требуемыми свойствами. У растений, неустойчивых к стрессовым воздействиям, генетического потенциала организма не хватает для того, чтобы сформировать оптимальный изоферментный комплекс, и в критических ситуациях это может привести к летальному исходу. Разумеется, в сложных саморегулирующихся системах, каковыми являются растения, в которых имеется громадное количество биополимеров, надмолекулярных структур и образований, выживаемость организма ни в коей мере не определяется одними пероксидазами, однако последние могут нести достаточную информацию о физиологическом состоянии растений и служить критерием устойчивости к стрессовым факторам [3].

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. Ауксин, пероксидаза и этилен взаимосвязаны при лигнификации тканей и проявляют свое действие в местах образования локальных повреждений. Сигналом, транспортируемым на расстояние, может

быть 1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота (АЦК), присутствие которой в различных частях растения является лимитирующим и определяющим фактором. АЦК-зависимый синтез этилена выражается как градиент реакций по всему растению. Такой тип сигнальной реакции обуславливает повышение активности пероксидазы на значительном расстоянии от пораженных клеток [4].

В связи с вышесказанным пероксидаза и была взята в качестве маркера стресса, то есть диагностического показателя устойчивости растений к различного рода воздействиям.

Поэтому **целью** данного исследования является изучение влияния плазменной (плазмы высокочастотного емкостного разряда (ВЧЕР) с газовой температурой $T_g \sim 300\text{K}$) и электромагнитной обработки (воздействие высокочастотного низкоинтенсивного электромагнитного поля (ВЧЭМП) мощностью $5\text{--}7 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) на пероксидазную активность растений *Lupinus angustifolius*.

Объекты и методы исследования.

Объектом исследования служили семена люпина узколистного сорта «Першацвет». Семена были получены в НПЦ НАН Беларуси по земледелию, г. Жодино.

Исследования проводились в лабораторных условиях. Семена люпина узколистного были обработаны плазмой с экспозицией 0,5 мин и подвергались электромагнитной (ЭМИ1) обработке с экспозициями 0,5 и 5 мин. Контролем для них служили необработанные семена. Также проводилась электромагнитная обработка семян с экспозициями 0,5 и 5 мин, подвергнутые ускоренному старению (УС) (4 дня при 40°C , 75 % влажности воздуха). Обработка плазмой и ЭМИ1 производилась в ГНУ «Институт физики им. Б.И. Степанова» НАН Беларуси. Кроме того, была проведена электромагнитная обработка семян в расчете на их объем (ЭМИ2) на расчетной длине волны внешнего воздействия 5,6 м с экспозицией 7 мин. Обработка ЭМИ2 производилась в Институте ядерных проблем БГУ на лабораторной установке для микроволновой обработки семян различных сельскохозяйственных культур в широком частотном диапазоне (от 37 до 120 ГГц) с плавной регулировкой мощности от 1 до 10 мВт, представленной на фотографии 1. Установка содержала источник сигнала (сменный), развязывающий вентиль (широкополосный), предназначенный для уменьшения влияния отражений в волноводном тракте на частоту СВЧ колебаний источника сигнала, аттенюатор, блок управления, рупорную антенну, емкость для размеще-

ния обрабатываемых семян [5, р. 909–910; 6, с. 68–73; 7, с. 36–37; 8, с. 17].

Обработанные семена проращивали в лабораторных условиях в течение 4 суток при температуре 18 °С: по 20 семян в трех повторностях для каждой экспозиции и контроля.

Для дальнейших биохимических исследований были получены *in vitro*-экстракты из 8 образцов проростков люпина узколистного сорта «Першацвет» четырехдневных растений люпина. В полученных экстрактах определена пероксидазная активность (Е/мл) и содержание общего белка (мг/мл), а также рассчитана удельная активность пероксидазы (Е/мг белка) (таблица 1).



Фотография 1. Лабораторная установка для микроволновой предпосевной обработки семян.

Результаты и их обсуждение. В ходе работы установлено, что исследуемые образцы сильно различаются по уровню пероксидазной активности (таблица 1, рисунок 1). Нами выявлено снижение пероксидазной активности в четырехдневных проростках люпина узколистного при воздействии ЭМИ1 экспозиции 0,5 мин, ЭМИ2, плазмой (0,5 мин), у растений, выращенных из семян, подвергшихся УС, а также обработками ЭМИ1 (0,5 мин).

Кроме того, в результате всех обработок снижалась концентрация белка в каждом образце по сравнению с контролем. Вероятно, обработки на какой-то момент тормозили биосинтез отдельных белков, особенно в случае с плазмой и ЭМИ1+ УС (5 мин) (таблица 1), а, возможно, в этот момент происходили перестройки изоферментного спектра пероксидаз, которые и определяют оптимальное для нормального функционирования соотношение белков с требуемыми адаптогенными свойствами [3].

При сопоставлении данных по активности и удельной активности пероксидазы с показателями ростовых процессов (таблицы 1–2) обнаружили увеличение массы проростков, тогда как длина проростков достоверно не изменялась. Это, возможно, связано с процес-

сами активной дифференцировки клеток, сопровождающимися их оводнением.

Кроме того, мы выявили варианты с повышением активности и удельной активности пероксидазы – ЭМИ1 УС 5 мин, а также удельной активности – ЭМИ1 5 мин и плазма 0,5 мин. Сопоставив этот результат с интенсивностью роста, отмечаем снижение массы проростков четырехдневных растений люпина. Это, вероятно, свидетельствует о значительном стрессе, в котором прибывают опытные растения после данных воздействий.

Таблица 1 – Влияние различных физических воздействий на общую и удельную активность пероксидазы в четырехдневных проростках люпина узколистного

№ п/п	Вариант опыта	Активность пероксидазы, Е/мл	Концентрация белка, мг/мл	Удельная активность пероксидазы, Е/мг белка
1	Контроль	592,904	0,68147	870,037
2	ЭМИ1 0,5 мин	430,12	0,51249	839,275
3	ЭМИ1 5 мин	498,216	0,48571	1025,748
4	ЭМИ2	474,344	0,59431	798,142
5	плазма 0,5 мин	481,68	0,38155	1262,430
6	УС	537,128	0,57889	927,858
7	ЭМИ1 УС 0,5 мин	477,384	0,54160	881,433
8	ЭМИ1 УС 5 мин	944,04	0,44951	2100,154



Рисунок 1 – Влияние различных физических воздействий на общую и удельную активность пероксидазы в четырехдневных проростках люпина узколистного: 1 – контроль; 2 – ЭМИ1 0,5 мин; 3 – ЭМИ1 5 мин; 4 – ЭМИ2; 5 – плазма 0,5 мин; 6 – УС; 7 – ЭМИ1 УС 0,5 мин; 8 – ЭМИ1 УС 5 мин.

В ходе исследований было выявлено, что все используемые обработки в большей или меньшей степени стимулируют всхожесть и энергию прорастания (рисунок 2) по сравнению с контролем. Вероятно, это связано с воздействием изучаемых обработок на активность гиббереллинов, которые играют важную роль в регуляции работы ферментов (возможно, и пероксидаз) на начальных этапах прорастания семян, оказывая влияние на энергию их прорастания.

Таблица 2 – Средние значения морфометрических показателей люпина узколистного на 4 сутки онтогенеза после плазменной и электромагнитной обработки

№ п/п	Вариант опыта; время обработки семян	Длина, см		Масса, г	
		корней	проростков	корней	проростков
1	Контроль	4,7±1,8	3,5±1,1	0,12±0,05	0,48±0,15
2	ЭМИ1 0,5 мин	3,8±1,9	3,5±1,4	0,13±0,06	0,48±0,15
3	ЭМИ1 5 мин	4,5±1,7	3,1±0,9	0,11±0,05	0,42±0,15
4	ЭМИ2	6,1±1,7	4,1±1,2	0,16±0,04	0,53±0,14
5	плазма 0,5 мин	4,6±1,8	3,2±1,1	0,12±0,05	0,45±0,14
6	УС	3,4±1,9	2,5±0,8	0,10±0,05	0,42±0,12
7	ЭМИ1 УС 0,5 мин	5,5±1,1	3,9±0,8	0,15±0,02	0,51±0,09
8	ЭМИ1 УС 5 мин	3,8±1,7	3,4±1,4	0,15±0,04	0,42±0,14

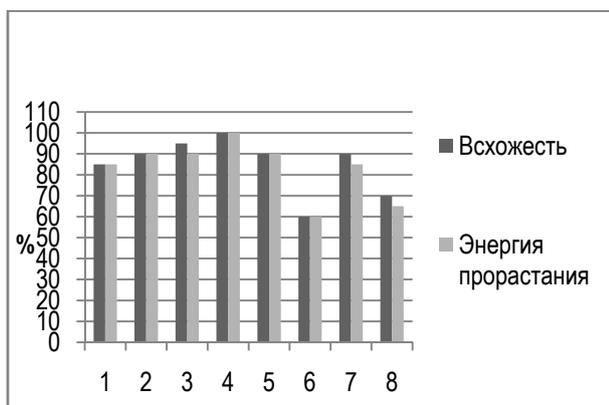


Рисунок 2 – Всхожесть и энергия прорастания семян люпина узколистного в результате УС и предпосевной обработки на 4 сутки онтогенеза: 1 – контроль; 2 – ЭМИ1 0,5 мин; 3 – ЭМИ1 5 мин; 4 – ЭМИ2; 5 – плазма 0,5 мин; 6 – УС; 7 – ЭМИ1 УС 0,5 мин; 8 – ЭМИ1 УС 5 мин.

Итак, между удельной активностью пероксидазы и характером ростовых процессов существует обратная зависимость. Повышение удельной активности пероксидаз под влиянием предпосевной электромагнитной (5 мин) и плазменной (0,5 мин) обработки семян свидетельствует о значительном стрессе растений и ведет к снижению ростовых процессов надземных частей люпина узколистного, тогда как снижение активности пероксидазы после обработки семян люпина ЭМИ2 приводит к активизации ростовых процессов у исследуемых растений на четвертые сутки онтогенеза.

Таким образом, наиболее эффективной обработкой, активизирующей всхожесть, энергию прорастания и ростовые процессы семян люпина узколистного, оказалась – ЭМИ2, а наименее эффективной – воздействие плазмой в течение 0,5 мин и ЭМИ1 УС в течение 5 мин.

Активность пероксидазы в данных случаях выступила как достоверный маркер стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Городецкая, Е.А. Влияние плазменно-радиоволновой обработки на агрономические качества семян / Е.А. Городецкая, Е.В. Спиридович, И.А. Коревко и др. // Теор. и прикладные аспекты интродукции растений как перспективного направления развития науки и нар. хоз-ва: материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня образования ЦБС НАН Беларуси, Минск, 12–15 июня 2007 г. – Т. 1. – С. 143–145.
2. Угарова, Н.Н. «Биохимия» / Н.Н. Угарова, О.В. Лебедева. – Вып 10. – М., 1978. – Т. 43. – С. 1731–1740.
3. Савич, И.М. Пероксидазы – стрессовые белки растений / И.М. Савич // Успехи современной биологии. – 1989. – № 3. – Т. 107.
4. Андреева, В.А. Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений / В.А. Андреева. – М.: Наука, 1988. – 128 с.
5. Karpovich, V.A. Application of microwave energy in modern biotechnologies / V.A. Karpovich, V.N. Rodionova, G.Ya. Slepryan // 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. Ермолович, А.А. О влиянии воздействия электромагнитных волн низкой интенсивности на всхожесть и поражение семенной инфекцией зерновых культур и злаковых трав / А.А. Ермолович, В.А. Карпович, О.Т. Новикова и др. // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2004. – № 1. – С. 68–73.
7. Ермолович, А.А. Предпосевная биофизическая обработка семян овощных культур с целью повышения посевных качеств / А.А. Ермолович, В.А. Карпович, О.Т. Новикова и др. // Гавриш, 2004. – № 3. – С. 36–37.
8. Карпович, В.А. Новая стимулирующая и обеззараживающая микроволновая технология предпосевной обработки семян овощных культур / В.А. Карпович, А.А. Ермолович, Е.Г. Михаленко и др. // Агротрансформация, 2004. – № 4. – С.17.

SUMMARY

*The features of influence of various kinds and ways of physical processing of seeds *Lupinus angustifolius*, having various physiological quality were studied. Enzyme peroxidase was used as a marker for definition character of stressful reaction of the processed plants in biochemical researches. As a result of the research inverse relationship between specific activity peroxidase and character of growth processes has been revealed. The most significant effect on growth, per cent and energy of germination of lupinus plants was given with electromagnetic processing of seeds at the rate of on their volume. Peroxidase activity has acted in the given cases as an authentic marker of stress.*