

УДК 661.162.66:581.14

ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ *ZEA MAYS* К ВЫСОКИМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ СУЛЬФАТА МЕДИ

Решетник Г. В.

Таврическая академия Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского, Симферополь, Республика Крым, Россия, reshetnikgv@gmail.com

Приводятся результаты исследований влияния синтетического стимулятора роста Эпин экстра на морфометрические и динамические показатели проростков кукурузы сорта Кладно на фоне действия различных концентраций сульфата меди в среде произрастания. Показано, что синтетический эпибрасинолид оказал положительное воздействие на прорастание семян и рост *Zea mays* L. на ранних этапах онтогенеза в условиях негативного воздействия тяжелого металла. Наиболее эффективная концентрация препарата становила 0,075 %, а время экспозиции предпосевной обработки семян составляло 24 часа. Высота проростков под действием препарата увеличивается в среднем на 45 %, масса сырого и сухого вещества – на 18 % и 13 % соответственно, митотический индекс меристематических клеток апикальной меристемы корня увеличивается на 33 % в вариантах опыта с максимальной концентрацией сульфата меди.

Ключевые слова: препарат Эпин экстра, предпосевная обработка семян, прорастание семян, проростки кукурузы, морфометрические показатели, сульфат меди.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время растения подвергаются нарастающему воздействию абиотических и антропогенных неблагоприятных факторов среды. Среди них засуха, низкая и высокая температура, засоление, высокие концентрации тяжелых металлов и ксенобиотиков. При концентрациях, превышающих физиологические потребности растений, поллютанты оказывают токсическое действие на их рост и развитие (Башмаков, Лукаткин, 2009).

Особый интерес исследователей привлекают так называемые эссенциальные элементы. Под этим термином понимают группу тяжелых металлов, которые в следовых количествах необходимы для метаболизма, роста и развития растений, тогда как в высоких концентрациях они токсичны для живых организмов (Полынов, 1993; Куликова и др., 2011). К такому типу металлов принадлежат медь и цинк, которые проявляют высокую степень токсичности и биологической активности. Медь – один из важнейших эссенциальных микроэлементов, является кофактором ряда ферментов, вовлекается в процессы фотосинтеза и дыхания, защищает растения от окислительного стресса (Hall, 2002; Лукаткин, 2005).

Незначительное повышение активности меди в среде может приводить к морфологическим и метаболическим нарушениям и поэтому рассматривается как стрессовый фактор (Косицин, Алексеева-Попова, 1983). Для большинства высших растений граница толерантности к меди составляет 10–6 моль Cu^{2+} /л. Под действием избытка меди снижается уровень биосинтеза хлорофилла, изменяется белковый состав хлоропластов, ингибируется транспорт электронов по фотосинтетической цепи. Особенно восприимчивы к избытку меди молодые ткани и органы (Полынов, 1993; Демидчик и др., 2001; Лукаткин, 2005).

Кукуруза – одна из основных культур современного мирового земледелия, культура разностороннего использования и высокой урожайности. На продовольствие в странах мира используется около 20 % зерна кукурузы, на технические цели – 15–20 % и примерно $\frac{2}{3}$ – на корм (Вавилов, 1986).

Для ослабления отрицательных влияний неблагоприятных факторов окружающей среды на рост и развитие сельскохозяйственных культур используют биологически активные вещества, в том числе регуляторы роста растений. Особого внимания заслуживает изучение роли брасиностероидов. Особого внимания заслуживает изучение роли брасиностероидов. Несмотря на исследования антистрессового действия брасиностероидов, нет четкого представления об оптимальных концентрациях препаратов для обработки разных видов растений на фоне различных стрессирующих факторов.

В связи с этим целью работы было изучение действия препарата Эпин экстра на устойчивость к сульфату меди молодых растений кукурузы. Для достижения цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Определить оптимальную дозу препарата Эпин экстра;
2. Изучить физиологический эффект синтетического brassinosterоида на ранних этапах развития кукурузы на фоне действия сульфата меди.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовались семена и проростки кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Кладио. В качестве регулятора роста растений использовали синтетический brassinolid – препарат Эпин экстра, регулятор и адаптоген широкого спектра действия, который обладает сильным антистрессовым действием. Препарат фирмы НЭСТ-М, автор Н. Н. Малеванная (2007).

С целью определения оптимальной концентрации препарата семена отбирались по средним размерам, протравливались в 1 % растворе перманганата калия и проращивались в водных растворах препарата Эпин экстра различной концентрации (0,025 %, 0,05 %, 0,075 %, 0,100 %) в кюветах на фильтровальной бумаге. Семена, что проращивались на водопроводной отстоянной воде, служили контролем. Затем кюветы помещались в термостат типа ТС-80-М-2 для проращивания в темноте при +25 °С.

Для изучения влияния препарата Эпин на устойчивость кукурузы к сульфату меди, предварительно обработанные 0,075 % раствором препарата Эпин экстра семена кукурузы проращивали в возрастающих концентрациях сульфата меди (25–100 мМ). Согласно ГОСТу 12038-84 (1986) энергию прорастания определяли на 4-е сутки, а лабораторную всхожесть – на 7-е. Проростки выращивали в водной культуре ($1/2$ среда Кнопа) с добавлением различных концентраций (25–100 мМ) сульфата меди. Каждые 7 суток роста проростков в водной культуре снимали ростовые показатели (высота стебля, длина корневой системы), определяли массу сырого и сухого вещества по общепринятым в физиологии растений методам (Третьяков и др., 1990; Чмелёва и др., 2013). Особенности цитотоксического действия исследуемого стрессового фактора – влияние сульфата меди на рост меристематических клеток корней кукурузы оценивали за изменениями митотического индекса, индекса аббераций на временных давленных препаратах по З. П. Паушевой (1988). Статистическую обработку полученных данных осуществляли, рассчитывая среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней арифметической (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Применение концентраций препарата Эпин экстра разными авторами варьирует в зависимости как для разных видов растений, так и для стрессирующих воздействий (Лукаткин и др., 2013). Поэтому на первом этапе исследовательской работы определяли физиологически активное разведение препарата Эпин экстра для стимуляции прорастания семян кукурузы и экспозицию предпосевной обработки семян кукурузы. В ходе эксперимента определили, что оптимальной концентрацией для семян кукурузы сорта Кладио является 0,075 % водный раствор препарата Эпин экстра, а время замачивания семян для предпосевной обработки составляет 24 часа. Энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян повысились в среднем на 10–9 %, соответственно по сравнению с контролем. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Влияние препарата Эпин экстра на энергию прорастания и всхожесть семян кукурузы сорта
Кладио

Вариант опыта	Энергия прорастания, % ($x \pm S_x$)	Доля к контролю, %	Всхожесть, % ($x \pm S_x$)	Доля к контролю, %
Контроль	86,0 \pm 0,5	100,0	90,0 \pm 0,3	100,0
Эпин экстра 0,025 %	87,0 \pm 0,3	101,2	91,0 \pm 0,5	101,1
Эпин экстра 0,05 %	89,0 \pm 0,5	103,5	92,0 \pm 0,5	102,2
Эпин экстра 0,075 %	95,0 \pm 0,4	110,5	98,0 \pm 0,3	108,9
Эпин экстра 0,100 %	88,0 \pm 0,4	102,5	94,0 \pm 0,3	104,4

В основе активации процессов роста растительного организма на органном уровне лежит стимуляция процессов клеточного роста, составной частью которой является митотическая активность меристем. Для объяснения процессов прорастания семян, обработанных препаратом Эпин экстра, и роста проростков на фоне действия различных концентраций сульфата меди, нами были определены митотический индекс ядер апикальных корневых меристем. При 100мМ концентрации сульфата меди наблюдалось ингибирование роста корневой системы растений. В некоторых случаях отмечали почернение меристематических участков корней, что свидетельствует о некрозе клеток меристемы. При максимальной концентрации CuSO_4 митотический индекс составлял 3,02 %. В этом же варианте, но с предпосевной обработкой семян препаратом, значение равнялось 4,04 %, увеличивая митотический индекс на 33 %.

Предпосевная обработка семян в 0,075 % растворе препарата Эпин экстра имела положительный эффект на морфометрические показатели проростков кукурузы на фоне действия сернистой меди (табл. 2).

Во всех вариантах опыта наблюдается стимулирующее действие препарата. Для 7-суточных проростков при минимальных концентрациях металла в среде (25–50мМ) увеличение надземной части достоверно не отличалась от вариантов опыта, где количество сульфата меди составляет 100 мМ. Высота проростков в данном варианте под действием препарата увеличивается в среднем на 45 % и составляет 12,8 см против 8,8 см без обработки семян. Как свидетельствуют данные таблицы 2, стимулирующий эффект препарата Эпин экстра сохраняется и для 14-ти суточных растений. Во всех вариантах опыта наблюдается увеличение морфометрических показателей, особенно в варианте с максимальным количеством металла, где высота растений увеличивается в среднем на 6 см.

Процессы роста, которые отражают общие функциональные изменения и метаболические изменения в растениях наиболее коррелируют с ходом накопления массы сырого и сухого вещества. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Максимальное накопление массы сырого вещества надземной частью растений кукурузы происходило в варианте с максимальной концентрацией сульфата меди. Препарат Эпин экстра стимулировал рост растений, соответственно увеличивалась биомасса. Действие 24-эписульфата нивелировало токсическое влияние сульфата меди, так сырая масса 14-ти дневных растений составляла 10,2 г, что на 18 % выше сырой массы, выращенных в 100мМ растворе сульфата меди. В контрольном варианте (семена, обработанные препаратом) масса сырого вещества надземной части растений составляла 10,4 г, так, как и в варианте 100мМ CuSO_4 , что подтверждает антистрессовое действие препарата Эпин экстра на токсическое действие тяжелого металла. Предпосевная обработка семян препаратом снимает токсическое действие тяжелого металла, так как показатели варианта опыта 100мМ CuSO_4 приблизительно равняются показателям контроля 2 (предпосевная обработка семян препаратом).

Таблица 2

Влияние препарата Эпин экстра на морфометрические показатели растений кукурузы на фоне действия сульфата меди

Варианты опыта	Высота надземной части, см ($\bar{x} \pm S_x$)		Длина корневой системы, см ($\bar{x} \pm S_x$)	
	7-е сутки	14-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
Контроль (вода)	11,3±0,1	22,4±0,4	9,2±0,2	12,0±0,1
Контроль + Эпин экстра	12,3±0,2	25,5±0,4	9,8±0,2	13,0±0,3±
25 мМ CuSO ₄	16,8 ±0,9	29,2±0,7	13,3±0,7	15,2±0,5
25 мМ CuSO ₄ + Эпин экстра	17,9±0,4	30,1±0,9	14,2±0,8	16,5±0,8
50 мМ CuSO ₄	13,1±0,7	24,1±0,8	8,5±0,9	13,2±0,8
50 мМ CuSO ₄ + Эпин экстра	14,1±1,1	28,2±0,9	12,5±0,6	14,8±1,2
100 мМ CuSO ₄	8,8±0,9	20,2±0,8	6,7±1,1	9,3±0,9
100 мМ CuSO ₄ + Эпин экстра	12,8±0,9	26,2±1,2	10,1±0,8	13,3±0,7

Таблица 3

Влияние препарата Эпин экстра на накопление массы сырого вещества кукурузы на фоне действия сульфата меди

Варианты опыта	Масса сырого вещества, г ($\bar{x} \pm S_x$)			
	Надземная часть		Подземная часть	
	7-е сутки	14-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
1	2	3	4	5
Контроль (вода)	6,11 ±0,01	10,11 ±0,06	2,800 ±,05	3,10 ±0,05
Контроль + Эпин экстра	6,49 ±0,01	10,40 ±0,05	2,90 ±0,05	3,30 ±0,05
25 мМ CuSO ₄	7,37 ±0,01	11,59 ±0,04	3,58 ±0,06	5,45 ±0,003
25 мМ CuSO ₄ + Эпин экстра	7,89±0,02	13,41 ±0,12	2,76 ±0,12	4,88 ±0,15
50 мМ CuSO ₄	6,24 ±0,07	10,11 ±0,03	2,45 ±,02	3,58 ±0,010
50 мМ CuSO ₄ + Эпин экстра	7,89 ±0,02	13,41 ±0,12	2,67 ±0,22	3,86 ±0,12
100 мМ CuSO ₄	5,37 ±0,08	8,58 ±0,03	1,40 ±0,002	2,54 ±0,07
100 мМ CuSO ₄ + Эпин экстра	6,26 ±0,02	10,19±0,16	1,96 ±0,28	3,01 ±0,14

Таким образом, полученные результаты достоверно показывают эффективность воздействия препарата Эпин экстра на процессы прорастания семян, рост и развитие ювенильных растений кукурузы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашей работе было проведено комплексное исследование влияния предпосевной обработки семян кукурузы препаратом Эпин экстра, который входит в число самых активных представителей brassinosteroidов, на ростовые показатели, физиолого-биохимические процессы на фоне действия сульфата меди. Было выявлено, что применение препарата Эпин экстра оказывает положительное воздействие на морфометрические и динамические показатели проростков кукурузы, вызывает стимуляцию ростовых процессов. Максимальные концентрации металла в среде ингибировали рост растений, величину накопления массы сырого и сухого вещества, влияли на митотический индекс меристематических клеток апекса корня. Предобработка препаратом Эпин экстра снижала степень влияния повреждающего действия сульфата меди, увеличивая ростовые показатели растений кукурузы, активируя физиолого-биохимические процессы в клетке, повышая митотический индекс. Препарат Эпин экстра оказывает защитный эффект на растения кукурузы на фоне действия ионов меди и может быть рекомендован к использованию в целях повышения металлоустойчивости растительных организмов.

Список литературы

- Башмаков Д. И., Лукаткин А. С. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений. – Саранск: изд-во Мордовского ун-та, 2009. – 236 с.
- Вавилов П. П. Растениеводство. М.: Агропромиздат, 1986. – 495 с.
- ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1986. – 29 с.
- Демидчик В. В., Соколик А. И., Юрин В. М. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений // Успехи современной биологии. 2001. – Т. 121, № 5. – С. 511–525.
- Косицин А. В., Алексеева-Попова Н. В. Растения в экстремальных условиях минерального питания. Эколого-физиологические исследования. Л.: Наука, 1983. – С. 5–22.
- Куликова А. Л., Кузнецова Н. А., Холодова В. П. Влияние избыточного содержания меди в среде на жизнеспособность и морфологию корней сои // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 5. – С. 719–727.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 350 с.
- Лукаткин А. С., Каштанова Н. Н., Духовский П. Влияние эпибрасинолида на термоустойчивость проростков кукурузы // Агрехимия. – 2013. – № 6. – С. 24–31.
- Лукаткин А. С. Избранные главы экологической физиологии растений. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2005. – 88 с.
- Малеванная, Н. Н. Брасиностероиды – новый класс фитогормонов плейотропного действия // Полифункциональность действия брасиностероидов: Сб. науч. трудов. – М.: «НЭСТ М», 2007. – С. 5–77.
- Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1988. – 255 с.
- Польнов В. А. Действие низких концентраций меди на фотоингибирование фотосистемы II у *Chlorella vulgaris* // Физиология растений. – 1993. – № 5. – С. 754–757.
- Чмелева С. И., Решетник Г. В., Кучер Е. Н. Методические материалы и задания для проведения лабораторного практикума по курсу «Физиология и биохимия растений». – Симферополь, 2013. – 77 с.
- Третьяков Н. Н., Карнаухова Т. В., Паничкин Л. А. Практикум по физиологии растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.
- Hall J. L. Cellular Mechanisms for Heavy Metal Detoxification and Tolerance // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 1–11.

Reshetnik G.V. The influence of epibrassinolide on the stability of *Zea mays* seedlings to high concentrations of copper sulphate // Ekosystemy. 2017. Iss. 12 (42). P. 59–63.

The results of studies are presented of the influence of *Epin Extra*, a synthetic growth stimulator, on the morphometric and dynamic indices of maize seedlings of the *Cladio* sort against the background of the action of various concentrations of copper sulfate in the growing medium. It was shown that synthetic epibrassinolide had a positive effect on germination of seeds and growth of *Zea mays* L. in the early stages of ontogenesis under conditions of negative influence of heavy metal. The most effective concentration of the preparation was 0,075 %, and the presowing seed treatment time was 24 hours. The height of sprouts under the action of the preparation increases by an average of 45 %, the mass of wet and dry matter – by 18 % and 13%, respectively, the mitotic index of meristematic cells of the apical root meristem increases by 33% in trial versions with a maximum concentration of copper sulfate.

Key words: *Epin Extra* preparation, presowing seed treatment, germination of seeds, corn seedlings, morphometric parameters, copper sulfate.

Поступила в редакцию 15 09.17