

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.192.8; 58.04

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-3-277-281>

Поступила в редакцию 09.03.2021

Received 09.03.2021

К. Р. Кем, Н. А. Ламан

*Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА НА СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО N-ФОСФОНОМЕТИЛГЛИЦИНОМ

Аннотация. Исследовано влияние эпибрасинолида (ЭБЛ) на содержание флавоноидов в проростках льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) и ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в условиях химического стресса, вызванного N-фосфонометилглицином (глифосатом). Отмечена видовая специфичность ответной реакции проростков изучаемых культур на внесение ЭБЛ в смеси с ингибирующей рост дозой глифосата. Данная специфичность выражается в ослаблении ингибирующего эффекта глифосата на содержание флавоноидов в тканях льна-долгунца и в отсутствии изменения уровня флавоноидов в корнях и надземной части проростков ярового ячменя.

Ключевые слова: флавоноиды, стресс, глифосат, N-фосфонометилглицин, брассиностероиды, эпибрасинолид, ингибирование

Для цитирования: Кем, К. Р. Влияние эпибрасинолида на содержание флавоноидов в проростках растений в условиях стресса, вызванного N-фосфонометилглицином / К. Р. Кем, Н. А. Ламан // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 3. – С. 277–281. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-3-277-281>

Karina R. Kem, Nikolai A. Laman

*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

EFFECT OF EPIBRASSYNOLIDE ON THE FLAVONOIDS CONTENT IN PLANT SPROUTS UNDER STRESS CAUSED BY N-PHOSPHONOMETHYLGLYCINE

Abstract. The effect of epibrassinolide (EBL) on the content of flavonoids in seedlings of fiber flax (*Linum usitatissimum* L.) and spring barley (*Hordeum vulgare* L.) under chemical stress caused by N-phosphonomethylglycine (glyphosate) was studied. The species specificity of the response of the seedlings to the introduction of EBL in a mixture with an inhibitory dose of glyphosate was noted. This specificity is expressed in the suppression of the inhibitory effect of glyphosate on the flavonoids' content in the tissues of fiber flax and the absence of changes in the level of the content of flavonoids in the roots and aerial part of spring barley seedlings.

Keywords: flavonoids, stress, glyphosate, N-phosphonomethylglycine, brassinosteroids, epibrassinolide, inhibition

For citation: Kem K. R., Laman N. A. Effect of epibrassinolide on the flavonoids content in plant sprouts under stress caused by N-phosphonomethylglycine. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 3, pp. 277–281 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-3-277-281>

Введение. Флавоноиды относятся к классу полифенольных соединений, которые синтезируются только высшими растениями. Эти соединения выполняют различные функции в клетках – участвуют в окислительно-восстановительных реакциях (ОВР), играют роль аттрактантов для насекомых и животных, что способствует размножению и распространению растений. Важной функцией флавоноидов является также защита растений от внешних неблагоприятных абиотических и биотических факторов [1–3]. Так как одним из важнейших свойств данных соединений является их участие в ОВР и нейтрализации активных форм кислорода, изменение содержания флавоноидов в тканях растений может являться показателем, характеризующим ответную реакцию организма на стресс.

Известно, что гербицидный эффект глифосата (N-фосфонометилглицина) связан с его способностью ингибировать фермент 5-еноилпирувил-шикимат-3-фосфат-синтазу – необходимый

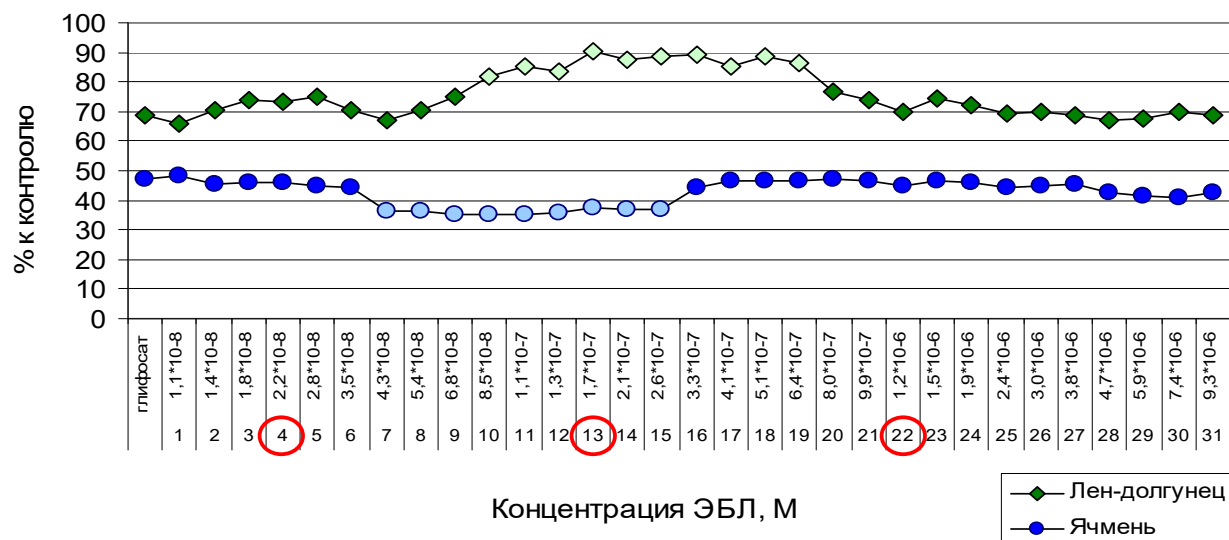


Рис. 1. Зависимость длины корня проростков льна-долгунца и ярового ячменя от концентрации ЭБЛ при концентрации глифосата $5,5 \cdot 10^{-2}$ М

Fig. 1. The dependence of the length of the root of fiber flax and spring barley seedlings on the concentration of EBL, at a glyphosate concentration of $5,5 \cdot 10^{-2}$ М

элемент шикиматного пути биосинтеза ароматических соединений: ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина и триптофана), фенольных соединений, терпеноидных хинонов, лигнинов, а также ряда других важных метаболитов (токоферолов, алкалоидов, фитогормонов) [4]. В этой связи было выдвинуто предположение, что внесение эпибрасинолида (ЭБЛ) в смеси с ингибирующей дозой глифосата непосредственным образом должно отразиться на содержании фенольных соединений (в частности, флавоноидов) в тканях растений.

В проведенных ранее исследованиях по изучению действия ЭБЛ на проростки растений в условиях химического стресса (в качестве стрессового фактора использовался гербицид глифосат) нами установлено, что в определенных диапазонах концентраций ЭБЛ способен как ослаблять ингибирующий эффект гербицида на рост корневой системы проростков (лен-долгунец), так и усиливать его (яровой ячмень) (рис. 1). Выявлено сходство данных диапазонов концентраций ЭБЛ у двух исследуемых культур [5].

Цель исследования – определить содержание флавоноидов в корнях и надземной части проростков льна-долгунца и ярового ячменя, семена которых были обработаны смесями глифосата в ингибирующей дозе и эпибрасинолида в различных концентрациях, и сопоставить результаты исследования с данными, полученными при изучении морфометрических показателей проростков при инкрустации семян указанными смесями.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили проростки льна-долгунца (сорт Грант) и ярового ячменя (сорт Радзимич).

Исследования зависимости доза–эффект при воздействии смесей глифосата в ингибирующей дозе и ЭБЛ в широких диапазонах концентраций на линейный рост проростков при инкрустации семян, выполненные ранее, позволили выделить дозы ЭБЛ, соответствующие трем точкам: до интервала взаимодействия компонентов смеси, внутри интервала и после интервала. Данные концентрации были использованы в настоящем опыте и составляли $2,2 \cdot 10^{-8}$, $1,7 \cdot 10^{-7}$ и $1,2 \cdot 10^{-6}$ М (на рис. 1 указанные концентрации обозначены кружком).

Концентрация глифосата $5,5 \cdot 10^{-2}$ М, используемая в опыте, была выбрана в соответствии с графиком зависимости доза–эффект в точке, где ингибирование роста корневой системы проростков составляло около 50 %. Контроль-1 – вариант с обработкой семян 1 %-ным раствором пленкообразователя Гисинар; контроль-2 – глифосат в концентрации $5,5 \cdot 10^{-2}$ М без ЭБЛ. Опыт по каждой исследуемой части проростка (корневая система и надземная часть) проводили в трехкратной повторности (каждая повторность включала 50 проростков).

Проращивание семян проводили методом рулонной культуры [6] в стеклянных емкостях объемом 1 л. После посева рулоны выдерживали в термостате 2 сут при температуре 22–24 °С, а на 3-и сутки перемещали в условия искусственного освещения интенсивностью 7,5 тыс. лк с режимом 14 ч – свет, 10 ч – темнота. Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрическим способом по методике, приведенной в работе [7], на 9-дневных проростках с использованием 5 %-ного спиртового раствора хлорида алюминия.

Статистическую обработку проводили с помощью стандартного пакета программ Microsoft Excel. В работе приведены средние значения и величины стандартной ошибки средней арифметической, по которым наглядно видны отличия между вариантами опытов.

Результаты и их обсуждение. Исследование воздействия brassinosteroids в широком диапазоне концентраций на рост проростков растений при инкрустации семян показало, что в оптимальных условиях проращивания в течение 9 сут brassinosteroids не оказывали влияния на рост корневой системы и надземной части проростков, а также на другие регистрируемые эффекты [8].

В опыте с корнями проростков при исследовании влияния ЭБЛ на содержание флавоноидов в тканях проростков льна-долгунца и ярового ячменя на фоне химического стресса были получены следующие результаты: в контроле-1 содержание флавоноидов составило 1,02 % у льна-долгунца и 0,49 % у ячменя; в контроле-2 – 0,60 и 0,29 % соответственно, т. е. глифосат снижал содержание флавоноидов в 1,7 раза у обеих культур (рис. 2).

При исследовании проростков льна-долгунца среди вариантов со смесями ЭБЛ и глифосата наибольшее содержание флавоноидов в корнях (по отношению к контролю-2) отмечалось в том варианте, где концентрация ЭБЛ составляла $1,7 \cdot 10^{-7}$ М (0,89 %). Эта концентрация соответствует интервалу взаимодействия между глифосатом и ЭБЛ, выявленному в опыте по изучению влияния смесей данных агентов на длину корневой системы проростков. Следует отметить, что добавление ЭБЛ во всех вариантах вызывало снижение ингибирующего эффекта гербицида по данному показателю.

В опытах с яровым ячменем добавление ЭБЛ в смеси не вызывало изменений количественного содержания флавоноидов в корнях проростков по отношению к контролю-2, а все отклонения по данному параметру не имели статистической достоверности.

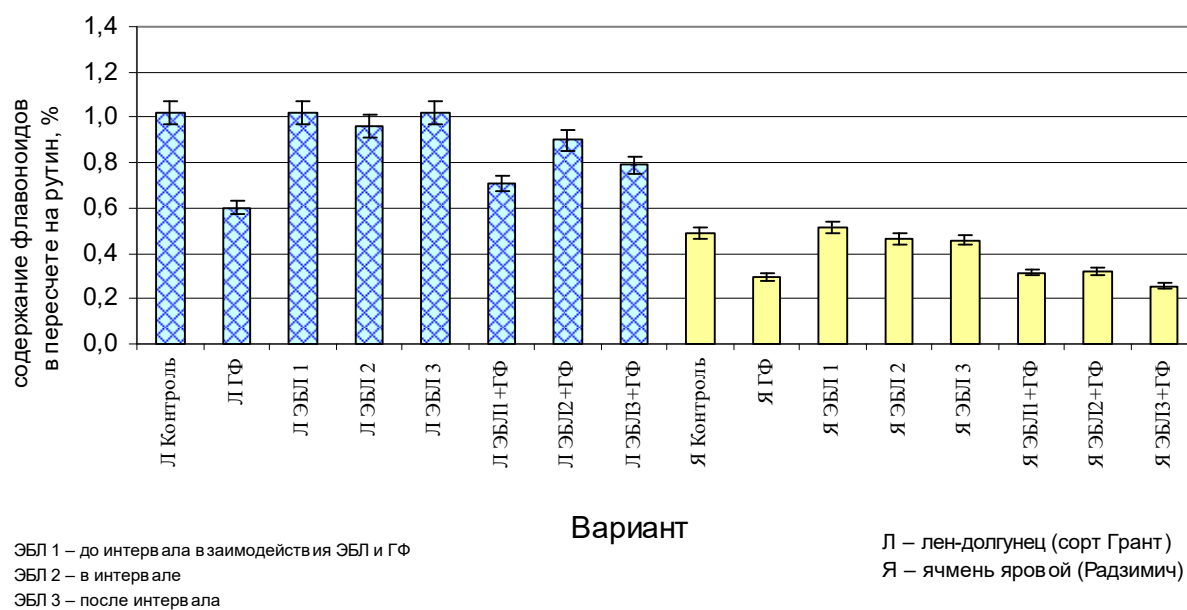


Рис. 2. Содержание флавоноидов в корнях проростков льна-долгунца и ярового ячменя при обработке семян смесями ЭБЛ и глифосата

Fig. 2. The content of flavonoids in the roots of fiber flax and spring barley seedlings under treatment of seeds with mixtures of EBL and glyphosate

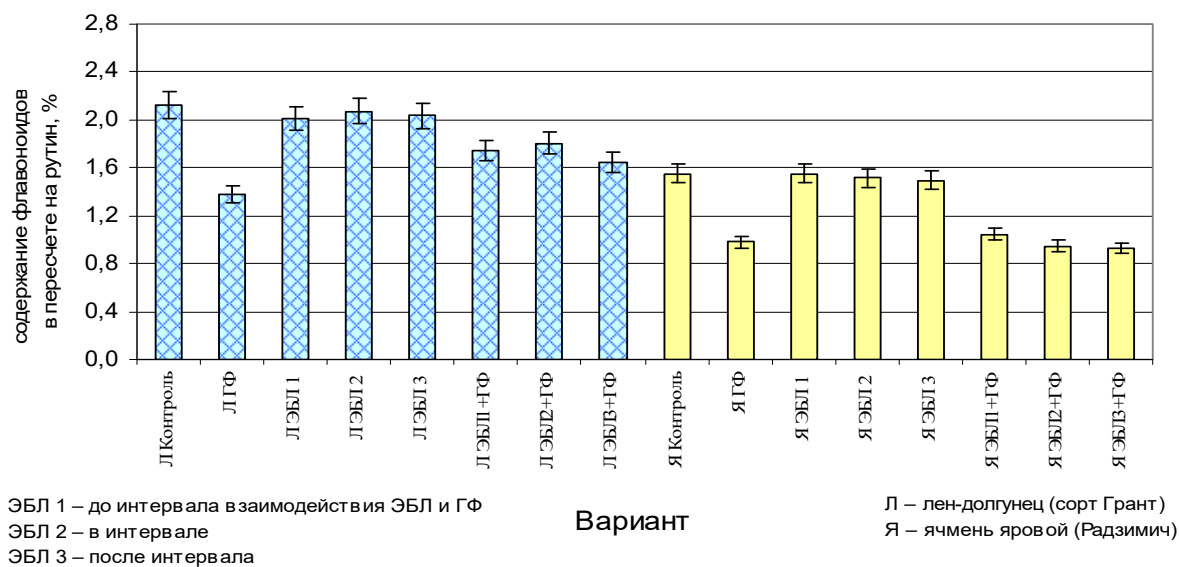


Рис. 3. Содержание флавоноидов в надземной части проростков льна-долгунца и ярового ячменя при обработке семян смесями ЭБЛ и глифосата

Fig. 3. The content of flavonoids in the aerial part of fiber flax and spring barley seedlings under treatment of seeds with mixtures of EBL and glyphosate

Содержание флавоноидов в надземной части проростков в контроле-1 составило 2,12 % у льна-долгунца и 1,55 % у ярового ячменя, в контроле-2 – 1,38 и 0,98 % соответственно (рис. 3). У льна-долгунца, как и в случае с корнями проростков, наблюдалось повышение уровня флавоноидов по сравнению с контролем-2 при внесении в смеси ЭБЛ. Наибольшее их содержание выявлено в варианте, где концентрация ЭБЛ составляла $1,7 \cdot 10^{-7}$ М (1,81 %), однако статистически значимого преимущества по сравнению с другими концентрациями ЭБЛ этот вариант не имел.

Что касается ярового ячменя, то, как и в опытах с корневой системой, при добавлении ЭБЛ в смеси с глифосатом изменения содержания флавоноидов в надземной части проростков по отношению к контролю-2 также не зарегистрировано.

Заключение. Результаты исследования содержания флавоноидов согласуются с полученными ранее данными. Выявлена значительная видовая специфичность реакции на инкрустацию семян смесями ЭБЛ и глифосата. Так, для проростков льна-долгунца характерно значительное снижение ингибирующего эффекта глифосата на содержание флавоноидов за счет внесения в смеси ЭБЛ, тогда как для проростков ярового ячменя такого снижения не выявлено. Предполагается, что более высокую антистрессовую активность ЭБЛ проявляет в концентрациях, близких к $1,7 \cdot 10^{-7}$ М.

В последние годы в европейском и мировом научном сообществе уделяется немало внимания изучению формирования стрессоустойчивости у растений под воздействием brassinosteroids. Результаты выполненных нами исследований морфометрических и биохимических показателей проростков ярового ячменя и льна-долгунца на фоне стрессового (ингибирующего) действия глифосата позволяют с высокой степенью достоверности осуществлять воспроизводимую количественную оценку ростовой активности не только ЭБЛ, но и ряда других природных brassinosteroids и их синтетических аналогов. Это свидетельствует об актуальности полученных результатов и возможных перспективах их использования в научной практике для оценки стресс-протекторного действия brassinosteroids.

Список использованных источников

1. Макаренко, О. А. Физиологические функции флавоноидов в растениях / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45, № 2. – С. 100–112.
2. Flavonoids: chemistry, biochemistry and application / ed. : O. M. Andersen, K. R. Markham. – New York : CRC Press, 2005. – 1256 p.

3. Stevenson, D. E. Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? / D. E. Stevenson, R. D. Hurst // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2007. – Vol. 64, N 22. – P. 2900–2916. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7237-1>
4. Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail / E. Schonbrunn [et al.] // *PNAS.* – 2001. – Vol. 98, N 4. – P. 1376–1380. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1376>
5. Влияние инкрустации семян смесями N-фосфонометилглицина и эпибрассинолида на рост растений / Н. А. Ламан [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 6. – С. 84–90.
6. Ламан, Н. А. Проращивание мелких, плоских и долго прорастающих семян рулонным методом с использованием синтетической вентиляционной сетки / Н. А. Ламан, С. И. Будай, О. Э. Барнатович // Изв. Акад. аграр. наук Респ. Беларусь. – 2000. – № 4. – С. 57–61.
7. Бубенчиков, Р. А. Спектрофотометрический метод определения содержания суммы флавоноидов в надземной части *Viola odorata* / Р. А. Бубенчиков // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2011. – № 15–2 (104). – С. 192–195.
8. Влияние эпибрассинолида в широком диапазоне концентраций на рост проростков растений / Н. А. Ламан [и др.] // Регуляция роста, развития и продуктивности растений : материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 28–30 окт. 2015 г. / науч. ред. Н. А. Ламан. – Минск, 2015. – С. 68.

References

1. Makarenko O. A., Levitskii A. P. Physiological functions of flavonoids in plants. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii* [Physiology and biochemistry of cultivated plants], 2013, vol. 45, no. 2, pp. 100–112 (in Russian).
2. Andersen O. M., Markham K. R. (eds.). *Flavonoids: chemistry, biochemistry and application*. New York, CRC Press Publ., 2005. 1256 p.
3. Stevenson D. E., Hurst R. D. Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, vol. 64, no. 22, pp. 2900–2916. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7237-1>
4. Schonbrunn E., Eschenburg S., Shuttleworth W. A., Schloss J. V., Amrhein N., Evans J. N. S., Kabsch W. Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, vol. 98, no. 4, pp. 1376–1380. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1376>
5. Laman N. A., Kem K. R., Khripach V. A., Sudnik A. F. The effect of seed incrustation with mixtures of N-phosphonomethylglycine and epibrassinolide on plant growth. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi* [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus], 2016, vol. 60, no. 6, pp. 84–90 (in Russian).
6. Laman N. A., Budai S. I., Barnatovich O. E. Germination of small, flat and long-germinating seeds by the roll culture method using a synthetic ventilation mesh. *Izvestiya Akademii agrarnykh nauk Respubliki Belarus'* [Proceedings of the Academy of Agrarian Sciences of the Republic of Belarus], 2000, no. 4, pp. 57–61 (in Russian).
7. Bubenichikov R. A. Spectrophotometric method for determining the content of the sum of flavonoids in the aerial part of *Viola odorata*. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Scientific bulletin of Belgorod State University. Series Natural Sciences], 2011, no. 15–2 (104), pp. 192–195 (in Russian).
8. Laman N. A., Kem K. R., Khripach V. A., Sudnik A. F. Effect of epibrassinolide in a wide range of concentrations on the growth of plant seedlings. *Regulyatsiya rosta, razvitiya i produktivnosti rastenii: materialy VIII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Minsk, 28–30 oktyabrya 2015 goda)* [Regulation of plant growth, development and productivity: materials of the VIII International scientific conference (Minsk, October 28–30, 2015)]. Minsk, 2015, p. 68 (in Russian).

Информация об авторах

Кем Карина Робертовна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kem-666@mail.ru

Ламан Николай Афанасьевич – академик, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikolai.laman@gmail.com

Information about the authors

Karina R. Kem – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kem-666@mail.ru

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikolai.laman@gmail.com