

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «НАНОКРЕМНИЙ» НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ ГОРЧИЦЫ САРЕПТСКОЙ

¹Абдракова Г.И., ¹Смирнова Ю.В., ²Хайруллин Р.М.

¹Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»,
Стерлитамак, e-mail: gulnara_99@mail.ru;

²Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа

Исследовано влияние обработки растений препаратом «НаноКремний» (ООО «НаноКремний») в различных концентрациях (разведение 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:3000, 1:4000) на рост корней и побегов, динамику активности пероксидазы и содержания малонового диальдегида в тканях побегов горчицы сарептской *Brassica juncea* (сорт Люкс РС1). Показано, что наибольший ростстимулирующий эффект проявляется при обработке семян при разведении препарата в 2000 раз. Растения в этом варианте опыта были наибольшими в сравнении с остальными вариантами. Длина побегов и корней проростков превышала значения контрольных на 4% и 40% соответственно. Обработка побегов раствором «НаноКремний» в высокой концентрации действующего вещества (разведение 1:500 и 1:1000) приводила к развитию в тканях горчицы окислительного стресса: происходило накопление малонового диальдегида (МДА) и повышение уровня пероксидазы на всем протяжении опыта. Изменения показателей перекисного окисления липидов и активности пероксидазы в тканях растений, обработанных раствором препарата в оптимальной концентрации (разведение 1:2000), были незначительны: уровень МДА не повышался выше контрольных показателей, активность пероксидазы быстро возвращалась к значению контрольных растений (обработанных водой).

Ключевые слова: нанокремний, пероксидаза, малоновый диальдегид, горчица сарептская, окислительный стресс

THE EFFECT OF THE DRUG «NANOSILICON» ON THE ACTIVITY OF PEROXIDASE AND THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN THE TISSUES OF BRASSICA JUNCEA

¹Abdrakova G.I., ¹Smirnova Yu.V., ²Khayrullin R.M.

¹Sterlitamak branch of the Bashkir State University, Sterlitamak, e-mail: gulnara_99@mail.ru;

²The Institute of Biochemistry and Genetics is a separate structural subdivision
of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa

The effect of treatment of plants with the preparation "Nanosilicon" (LLC "Nanosilicon") in various concentrations (breeding 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:3000, 1:4000) on the growth of roots and shoots, the dynamics of peroxidase activity and the content of malondialdehyde in the tissues of shoots of mustard Sarepta *Brassica juncea* (grade Lux RS1). It is shown that the greatest growth-stimulating effect is manifested during seed treatment when the drug is diluted 2000 times. The plants in this variant of the experiment were the largest in comparison with the other variants. The length of shoots and roots of seedlings exceeded the control values by 4% and 40%, respectively. Treatment of shoots with a solution of "nanosilicon" in a high concentration of the active substance (dilution of 1:500 and 1:1000) led to the development of oxidative stress in mustard tissues: there was an accumulation of malondialdehyde (MDA) and an increase in the level of peroxidase throughout the experiment. Changes in lipid peroxidation and peroxidase activity in plant tissues treated with a solution of the drug at an optimal concentration (dilution 1:2000) were insignificant: the MDA level did not rise above the control indicators, the peroxidase activity quickly returned to the value of control plants (treated with water).

Keywords: nanosilicon, peroxidase, malondialdehyde, *Brassica juncea*, oxidative stress

В настоящее время нанотехнологии все шире внедряются в различные отрасли народного хозяйства, в том числе в растениеводство. С помощью современных методов созданы препараты на основе наночастиц серы, железа, меди, кремния и др., повышающие урожайность и устойчивость сельскохозяйственных культур к различным факторам. Одним из таких препаратов является «НаноКремний» (ООО «НаноКремний», Россия), основное действующее вещество которого – чистый неокисленный кристал-

лический кремний [1]. Препарат способствует лучшему усвоению микро- и макроэлементов, удержанию влаги и повышает водный потенциал растений, совершенствуя тем самым процесс восстановления после неблагоприятных погодных условий, улучшает транспортировку фитогормонов и пролонгирует их действие. Оптимизация кремниевого питания растений приводит к повышению их фотосинтетической активности. Наночастицы кремния индуцируют устойчивость растений к стрессовым фак-

торам, укрепляя клеточные стенки на пути патогенов, улучшая фотосинтез, активируя защитные ферменты, увеличивая концентрацию антистрессовых соединений и активируя экспрессию генов защиты. Известно, что кремний усиливает антиоксидантную защитную активность растений [2].

Несмотря на перечисленное положительное влияние на растения некоторых препаратов на основе наночастиц, в научной литературе имеются сведения о токсическом эффекте наноматериалов как на растения, так и на другие компоненты экосистем [3]. Ряд исследований показали токсические эффекты наночастиц кремния на водоросли, растения арабидопсиса, сахарной свеклы, кукурузы и др. Предполагается, что эффект наночастиц зависит от вида растений, типа наночастиц, их дозы, размера, концентрации и способа обработки растений. Известно, что обработка растений препаратами на основе наночастиц может приводить к развитию окислительного стресса в растительных тканях [4]. Кроме того, остается открытым вопрос о механизмах действия наночастиц, в том числе кремния, их физиологическом эффекте на растения, видовой и сортовой специфичности.

В связи с этим целью работы стало изучение влияния препарата «НаноКремний» на активность антиоксидантного фермента пероксидазы и интенсивность перекисного окисления липидов в тканях горчицы сарептской (*Brassica juncea*).

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали растения горчицы сарептской (*Brassica juncea*) сорта Люкс РС1. Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Для обработки семян и побегов растений использовали препарат «НаноКремний» (ООО «НаноКремний») на основе кремния с массовой долей элемента не менее 50% (рН 7,8), размером частиц 0,005–0,5 мкм [1].

Обработка семян перед посевом. Семена обрабатывали раствором препарата с различным разведением (в 500, 1000, 2000, 3000, 4000 раз) из расчета на 1 г семян 20 мкл рабочего раствора (20 л/т). Семена проращивали в чашках Петри (d = 15 см) при температуре 18–20 °С в темноте на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой (по 10 мл в каждую чашку). Размеры проростков оценивали через 5 суток проращивания. Измеряли длину побегов и корней.

Обработка растений горчицы. Семена горчицы высевали в пластиковые вегета-

онные сосуды (20×20×20 см), наполненные 1 кг воздушно-сухой почвы (чернозем выщелоченный). В каждый вегетационный сосуд высевали по 90 семян на глубину 0,5 см. Растения выращивали в течение 30 дней при температуре 18–20 °С при равномерном освещении люминесцентными лампами (12 кЛк) и 16-часовом фотопериоде.

Для обработки побегов использовали препарат «НаноКремний», который разводили дистиллированной водой в 500, 1000, 2000, 3000, 4000 раз и опрыскивали побеги до смачивания листьев. Растительный материал для анализа отбирали через 2, 4, 6, 12, 24 ч после обработки.

Методы биохимических исследований. Побеги горчицы гомогенизировали в фосфатном буфере (рН 6,0), центрифугировали при 10 тыс. об/мин, для дальнейшего анализа использовали надосадочную жидкость. Об активности пероксидазы судили по количеству окисленного ортофенилендиамина согласно методу, предложенному Р.М. Хайруллиным с соавт. [5]. Об интенсивности перекисного окисления липидов в тканях растений судили согласно методу Costa с соавт. (2002) по накоплению малонового диальдегида (МДА). Метод основан на способности МДА при высокой температуре в кислой среде реагировать с 2-тиобарбитуровой кислотой, образуя при этом розовый триметилловый комплекс [6].

Все эксперименты проводили не менее чем в трёх повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных программ пакета Microsoft Office Excel 2007.

Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что растения обладают видовой и сортовой специфичностью ответа на действие факторов среды и различных химических соединений. Поэтому дозы ростстимулирующих препаратов, рекомендованные для одних сельскохозяйственных культур, могут не оказывать подобного эффекта на другие виды и сорта растений [3, 4].

На первом этапе исследования был проведен эксперимент по выявлению концентрации препарата «НаноКремний», стимулирующей рост горчицы сарептской сорта Люкс РС1. Установлено, что при обработке семян препаратом в высоких концентрациях (разбавление 1:500 и 1:1000) наблюдалось угнетение роста проростков: в пределах 6–7% у корней и 20–24% у побегов в сравнении с контрольными проростками (табл. 1).

Таблица 1

Влияние обработки семян горчицы препаратом «НаноКремний»
на морфометрические показатели пятидневных проростков

Длина, см	Контроль (вода)	Разбавление препарата				
		1:500	1:1000	1:2000	1:3000	1:4000
Корня	3,61±0,11	3,35±0,11	3,38±0,09	5,05±0,22	4,50±0,10	4,84±0,22
Побега	2,64±0,19	2,13±0,15	2,02±0,10	2,75±0,13	2,35±0,08	2,33±0,10

Таблица 2

Влияние «НаноКремния» на содержание МДА
в тканях побегов горчицы сарептской, нмоль/ г сырого веса

Варианты опыта	Время, ч				
	2	4	6	12	24
Контроль (вода)	3,7±0,2	3,7±0,1	5,6±0,3	5,0±0,1	4,0±0,1
500	4,7±0,1	4,7±0,1	4,9±0,1	5,5±0,1	4,5±0,2
1000	4,5±0,1	4,9±0,1	5,0±0,2	5,7±0,2	4,6±0,1
2000	4,2±0,2	3,7±0,1	4,4±0,1	4,7±0,1	4,1±0,1
3000	4,5±0,2	3,4±0,1	4,4±0,2	3,9±0,1	4,1±0,1
4000	3,8±0,1	3,6±0,2	5,0±0,3	5,1±0,1	4,0±0,1

Наибольший ростстимулирующий эффект был отмечен при использовании для обработки семян препарата в разведении 1:2000. Показатели длины побегов горчицы этого варианта опыта были больше контрольного варианта (обработаны водой) на 4%, побегов – на 40%.

Известно, что любое воздействие на растение (изменение освещенности, водного режима, механическое повреждение и др.), в том числе обработка препаратами, вызывает в тканях растений каскад биохимических реакций. В частности, развитие окислительного стресса – естественный ответ растения на некоторые внешние неблагоприятные воздействия [7].

Окислительный стресс растений обусловлен накоплением в растительных тканях активных форм кислорода, которые способствуют интенсивному окислению липидов мембран и разрушению растительных клеток. Продукты перекисного окисления липидов являются индикатором биохимического повреждения клеток и стрессуемости организма. В ответ на повреждающее действие активных форм кислорода возрастает активность антиоксидантных ферментов: каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы. С их активностью напрямую связана устойчивость растений к различным факторам среды [6, 7].

Нами изучалась динамика активности пероксидазы (табл. 3) и содержания МДА (табл. 2) в побегах растений горчицы по-

сле обработки препаратом «НаноКремний» в различных концентрациях.

Показано, что у растений, которые не были обработаны препаратом (контроль, вода), максимальное содержание МДА было отмечено через 6 ч после обработки растений (табл. 2). Подобный подъем уровня МДА в этот временной промежуток был отмечен и в других вариантах опыта.

Обработка побегов растений препаратом «НаноКремний» в 500-3000-кратных разведениях способствовала повышению содержания МДА через 2 ч от начала эксперимента. В последующем количественный уровень МДА оставался высоким только в побегах растений, обработанных препаратом в разведении 1:500 и 1:1000. В тканях побегов, обработанных раствором в разведении 2000 и 3000 раз, через 6–12 ч после обработки уровень МДА был ниже, чем в контрольных (обработанных водой) растениях. Через 24 ч показатели содержания МДА оставались высокими только у растений, обработанных препаратом в высокой концентрации (1:500 и 1:1000).

Показатели содержания МДА в побегах растений, обработанных препаратом нанокремния в самой низкой концентрации (разбавление в 4000 раз), достоверно не отличались от контрольных растений на всем протяжении эксперимента. Вероятно, концентрация действующего вещества в растворе была настолько небольшой, что частицы кремния не оказывали заметного физиологического эффекта.

Таблица 3

Влияние «НаноКремния» на активность пероксидазы в тканях побегов горчицы сарептской, мг кат/л

Варианты опыта		Время после обработки, ч				
		2	4	6	12	24
Контроль (вода)		1,09±0,01	1,15±0,22	1,04±0,04	1,03±0,02	1,16±0,01
Разбавление препарата	1:500	1,53±0,02	1,91±0,12	1,95±0,08	1,45±0,03	1,43±0,14
	1:1000	1,22±0,04	1,90±0,20	1,51±0,12	1,41±0,06	1,44±0,10
	1:2000	1,08±0,01	1,25±0,11	1,17±0,04	1,22±0,11	1,04±0,05
	1:3000	1,01±0,03	1,00±0,01	1,10±0,01	0,99±0,11	1,07±0,02
	1:4000	1,01±0,01	1,05±0,02	1,08±0,05	1,08±0,02	1,11±0,04

К основному механизму устойчивости растений к действию окислительного стресса относят активацию ферментов антиоксидантной защиты, одним из которых является пероксидаза. Утилизация активных форм кислорода пероксидазой при окислении фенолов является эффективной защитой клеточных структур от повреждения при окислительном стрессе, который развивается в результате фотосинтеза, дыхания и воздействия стрессора [7].

В ходе проведенных экспериментов было отмечено, что обработка побегов растений препаратом «НаноКремний» при пятисоткратном и тысячекратном разведениях приводила к повышению активности пероксидазы на всем протяжении опыта. Максимальный подъем активности фермента в тканях растений в этих вариантах опыта был отмечен через 4 ч и 6 ч после обработки. Так, показатели активности пероксидазы в тканях побегов растений, обработанных раствором препарата в разведении 1:500, через 6 ч после обработки были больше контрольных (обработаны водой) на 87,5%. В последующем активность пероксидазы в тканях побегов в этих вариантах опыта несколько снижалась, но оставалась выше, чем у растений контрольного варианта (табл. 3).

В тканях побегов, обработанных раствором препарата с разведением в 2000 раз, через 4–12 ч после обработки наблюдали незначительное повышение активности пероксидазы (в пределах 20%) в сравнении с контрольными растениями. Через 24 ч показатели активности фермента в тканях растений этого варианта опыта не отличались от контрольных.

Показатели активности пероксидазы в побегах горчицы, обработанных препаратом нанокремния с разбавлением в 3000 и 4000 раз, так же как и показатели МДА достоверно не отличались от контрольных растений на всем протяжении эксперимента.

Анализируя полученные данные, следует отметить, что повышение активности пероксидазы в тканях побегов горчицы сарептской преимущественно коррелировало с высоким уровнем МДА. Вероятно, активация фермента в растительных тканях происходила в ответ на развитие окислительного стресса.

Заключение

Исследовано влияние обработки растений препаратом «НаноКремний» в различных концентрациях на рост, динамику активности пероксидазы и содержания малонового диальдегида в тканях побегов *B. juncea* (сорт Люкс РС1). Установлено, что наибольший ростстимулирующий эффект оказывает обработка семян горчицы препаратом «НаноКремний» в разведении 1:2000. Показатели длины побегов и корней растений в этом варианте опыта были максимальными в сравнении с растениями в остальных вариантах эксперимента.

При обработке побегов препаратом «НаноКремний» в этой же концентрации (1:2000) интенсивность развития окислительного стресса в тканях растений была незначительной: уровень МДА не повышался выше показателей у контрольных растений, активность пероксидазы быстро возвращалась к уровню контрольных растений. Обработка побегов препаратом «НаноКремний» в более высоких концентрациях (1:500 и 1:1000) приводила к развитию в растительных тканях окислительного стресса.

Препараты на основе наночастиц кремния, несомненно, могут стимулировать рост и развитие растений и других видов. С учетом возможной видовой отзывчивости культур на действие этого препарата необходимо дальнейшее изучение влияния обработки семян и растений нанокремнием на представителей других видов сельскохозяйственных культур.

Список литературы

1. Хорошилов А.А., Павловская Н.Е., Бородин Д.Б., Яковлева И.В. Фотосинтетическая продуктивность и структура урожая яровой пшеницы под влиянием нанокремния в сравнении с биологическим и химическим препаратами // Сельскохозяйственная биология. 2021. Т. 56. № 3. С. 487–499.
2. Жаркова С.В. Исследование действия нанокремния и удобрения «гумат» на рост, развитие и продуктивность сои сорта «алтом» // Сельскохозяйственные науки. 2020. Т. 1–1 (40). С. 138–141.
3. Goswami P., Yadav S., Mathur J. Review Article Positive and negative effects of nanoparticles on plants and their applications in agriculture. *Plant Science Today*. 2019. Vol. 6. No. 2. P. 232–242.
4. Wang L., Ning C., Pan T., Cai K. Role of Silica Nanoparticles in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Plants: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. P. 1947. DOI: 10.3390/ijms23041947.
5. Хайруллин Р.М., Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Ахметова И.Э. Активация хитоолигосахаридами окисления ортофенилендиамина проростками пшеницы в присутствии щавелевой кислоты // Биохимия. 2001. Том 66. № 3. С. 354–358.
6. Costa H., Gallego S.M., Tomaro M.L. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Sci.* 2002. Vol. 162. P. 939–945.
7. Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Botany*. 2012. P. 1–26.