

## АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ, ПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПРИ ИЗБЫТКЕ МАРГАНЦА В СРЕДЕ

С.С. Лисник, Ю.Л. Корецкая

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Республика Молдова, [slisnic@rambler.ru](mailto:slisnic@rambler.ru)

**Аннотация.** В стрессовых условиях увлажнения (35% ПВ) умеренные дозы Mn в почве (50 мг/кг) приводят к стимулированию первичного процесса восстановления нитратов, незначительному снижению активности пероксидазы и содержанию пролина в листьях, а также к увеличению вегетативной массы растений, что указывает на более полную реализацию адаптивного потенциала растений в таких условиях. Избыток Mn в почве (дозы 600-1200 мг/кг) снижает активность нитратредуктазы, повышает активность пероксидазы и содержание пролина в листьях.

**Ключевые слова:** марганец, сахарная свекла, нитратредуктаза, пероксидаза, пролин

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-466-470

Сбалансированное обеспечение сельскохозяйственных культур питательными элементами может способствовать, по меньшей мере, частичному предотвращению засух, активно участвуя в нескольких защитных механизмах, таких как осморегуляция и антиоксидантные системы [Diego et al., 2014]. Микроэлементы, на фоне оптимальных доз основного удобрения (NPK) в почве, повышая их доступность для растений, способствуют также более эффективному использованию воды растениями, в частности, при недостатке влаги в почве [Karim, Rahman, 2015]. При этом у растений гипераккумуляторов тяжелых металлов проявляются гипераккумулирующие механизмы для поддержания элементного баланса и окислительно-восстановительного гомеостаза с избытком Mn [Zhao et al., 2012]. Было установлено также, что некорневая обработка растений разными концентрациями сульфата цинка и марганца оказывает существенное влияние на физиологические и биохимические процессы в растениях, с последующим накоплением вегетативной массы растений как в нормальных условиях увлажнения почвы, так и при засухе [Khan et al., 2016]. С другой стороны, показано, что при загрязнении среды тяжёлыми металлами, засолении или водном стрессе применение Mn имеет лишь роль в смягчении неблагоприятного воздействия на окружающую среду [Pandya et al., 2005]

Цель исследования – выявить закономерности в содержании пролина (как осмолит), активности нитратредуктазы, пероксидазы и содержании Mn, Zn, Fe и Cu в листьях сахарной свеклы в зависимости от возрастающих доз марганца в условиях водной и почвенной культур и в зависимости от кратковременного водного стресса.

Кратковременные опыты с сахарной свеклой (гибрид Вилия) проводились с использованием водной и почвенной культур и с применением возрастающих доз Mn на ранних фазах роста растений (5-7 листьев). Масса почвы (чернозём карбонатный) в каждом сосуде составляла 1000 г. В каждом сосуде вносили основные удобрения (NPK - 100 мг активного вещества/кг почвы). В условиях водной культуры возрастающие дозы Mn вносили на фоне питательной смеси Белоусова. Для изучения эффекта возрастающих доз Mn в почве и кратковременного водного стресса (10 дней) проводились вегетационные опыты в сосудах ёмкостью 6 кг почвы. В каждом сосуде вносили основные удобрения (NPK - 300 мг активного вещества/кг почвы). Растения подверглись кратковременному водному стрессу в фазе интенсивного роста растений (35% ПВ, 10 дней). Варианты представлены в таблицах 1, 2, 3. Активность

нитратредуктазы в листьях определяли *in vivo* по Mulder [Ермаков и др., 1987], активность пероксидазы – по Бояркину [Бояркин, 1951], содержание пролина - по Bates [Bates et al., 1973], содержание Mn, Zn, Cu и Fe в листьях – на AAS -1.

На ранней фазе развития растений (5-7 листьев) доза 50 мг Mn/кг почвы способствовала повышению накопления вегетативной массы растений на 18,2% в то время как дозы 600 и, особенно, 1200 мг/кг – к значительному снижению накопления растительной массы на 9,82 и соответственно 45,9%. В условиях водной культуры наибольшая масса растений выявлена при дозе 1 мкмоль Mn/л. Добавление в питательную среду 50 мкмоль Mn/л значительно уменьшало накопление массы растений, а при дозе 200 мкмоль Mn/л – визуальные симптомы токсичности.

**Таблица 1.**

**Содержание пролина (мкмоль / г сырого вещества) в листьях в зависимости от применения возрастающих доз Mn в питательном растворе Белоусова (мкмоль /л) и в почве (мг/кг)**

Водная культура		Почвенная культура	
Варианты	Пролин, мкмоль / г с.в.	Варианты	Пролин, мкмоль / г с.в.
Контроль	0,51 ± 0,04	Контроль	0,81 ± 0,05
Mn - 1 мкмоль /л	0,66 ± 0,07	Mn – 50 мг/кг почвы	0,91 ± 0,04
Mn - 50 мкмоль /л	0,75 ± 0,05	Mn - 300 мг/кг почвы	0,98 ± 0,04
Mn - 100 мкмоль /л	0,74 ± 0,04	Mn- 600 мг/кг почвы	1,21 ± 0,02
Mn - 200 мкмоль /л	1,21 ± 0,03	Mn-1200 мг/кг почвы	1,47 ± 0,01

Увеличение концентрации Mn в питательном растворе Белоусова привело к усилению накопления пролина в листьях (табл. 1). Следует отметить, что при концентрации Mn в диапазоне 50-100 мкмоль Mn/л содержание пролина практически не изменялось и составило 0,75 мкмоль / г с.в. и значительно повысилось при дозе 200 мкмоль Mn/л (1,21 мкмоль / г с.в.). В условиях почвенной культуры возрастающие дозы Mn в диапазоне 50 – 300 мг Mn/кг почвы незначительно повлияли на накопление пролина в листьях. Как видно из данных таблицы 1, несмотря на внесение сверхвысоких доз Mn в почву (600 и 1200 мг/кг) содержание пролина в листьях повысилось незначительно. Таким образом, из представленных данных (табл. 1) следует отметить отсутствие корреляции между степени загрязнения почвы Mn и накоплением пролина в листьях.

Дефицит воды в почве в течение 10 дней (35% ПВ) в фазе интенсивного роста растений привел к резкому увеличению содержания пролина в листьях во всех вариантах опыта (табл. 2). Так, если в контрольном варианте при оптимальных условиях увлажнения почвы (70% ПВ) содержание пролина в листьях составила 2,62 мкмоль/г с.в., то при недостатке влаги в почве (35% ПВ) его содержание повысилось до 6,31 мкмоль/г с.в. В варианте с внесением 50 мг Mn/кг почвы отмечено некоторое снижение содержания пролина в листьях как при оптимальных условиях увлажнения, так и при недостатке влаги в почве. Однако дальнейшее возрастание доз марганца способствовало незначительному аккумулярованию пролина в листьях, что свидетельствует о высокой толерантности растений сахарной свеклы к избыточным дозам марганца в почве.

После действия кратковременного водного стресса растения переносились в оптимальных условиях увлажнения. Через десять дней роста растений в оптимальных условиях увлажнения определяли содержание пролина в листьях. Выявлено, что у таких растений содержание пролина в листьях практически выровнялась с его содержанием в листьях, у растений выращенных только в оптимальных условиях

увлажнения. При этом данные таблицы 2 показывают некоторое снижение содержания пролина в листьях при дозе 50 мг Mn/кг почвы. По-видимому, данное количество марганца явилось оптимальной для роста и развития растений, как в оптимальных, так и стрессовых условиях увлажнения почвы.

Одновременно выявлены изменения в активности нитратредуктазы в листьях. Доза 50 мг Mn/кг почвы, как правило, способствовала стимулированию первичного процесса восстановления нитратов в листьях как при оптимальных, так и при стрессовых условиях увлажнения почвы. Избыток Mn приводил к снижению активности нитратредуктазы во всех вариантах опыта независимо от влажности почвы.

**Таблица 2.**

**Содержание пролина(мкмоль / г сырого вещества) в листьях сахарной свеклы в зависимости от применения возрастающих доз Mn в почве, действия и последствия кратковременного водного стресса**

Вариант	После 10-го дня водного стресса, 70% ПВ		После 10-ти дней оптимального увлажнения	
	70% ПВ	35% ПВ	70% ПВ	35% ПВ
Контроль	2,62± 0,02	6,31± 0,31	1,21± 0,05	1,05± 0,07
Mn - 50 мг	2,38± 0,14	6,15± 0,25	0,95± 0,09	1,02± 0,04
Mn-600 мг	2,74 ±0,02	6,43± 0,17	1,17± 0,11	1,54± 0,06
Mn-1200 мг	2,97± 0,08	6,61± 0,08	1,92 ±0,05	2,35± 0,12

При этом более низкая активность фермента отмечено как при избытке марганца в среде, так и при недостаточном обеспечении растений влагой (табл.3). В оптимальных условиях увлажнения почвы (70% ПВ) избыток марганца незначительно повлиял на активность пероксидазы, что свидетельствует о высокой толерантности растений сахарной свёклы к повышенным концентрациям данного микроэлемента в почве. Следует отметить, что при дефиците влаги в почве активность пероксидазы выше во всех вариантах опыта независимо от внесенного марганца в среде. Вместе с тем, возрастающие дозы марганца, включая высокие и даже сверхвысокие (600-1200 мг/кг), не приводили к значительному повышению активности фермента, что свидетельствует об устойчивости растений сахарной свеклы к избытку этого тяжелого металла в почве.

**Таблица 3.**

**Активность нитратредуктазы (мкг NO<sub>2</sub><sup>-</sup> / г с.вещества, 30 мин.) и пероксидазы (относит. ед./г с. вещества/мин) в листьях сахарной свеклы после кратковременного водного стресса (10 дней) в зависимости от возрастающих доз Mn в почве.**

Вариант	Активность нитратредуктазы		Активность пероксидазы	
	70% ПВ	35% ПВ	70% ПВ	35% ПВ
Контроль	12,92±0,52	11,29±0,81	3,22± 0,12	4,71± 0,15
Mn - 50 мг	13,14±0,17	11,93±0,41	3,12± 0,12	4,49 ±0,21
Mn - 600 мг	11,45±0,66	10,86±0,71	3,25± 0,09	4,22± 0,12
Mn - 1200 мг	11,32±0,18	10,27±0,38	3,55± 0,15	4,91± 0,12

Это подтверждается и тем, что загрязнение почвы сульфатом марганца незначительно повлияло на накопление вегетативной массы растений. Даже при стрессовых условиях увлажнения сверхвысокая доза (1200 мг Mn / кг почвы), масса одного растения составила 207 г) и снизилась по сравнению с массой одного растения контрольного варианта на 9,6%.

Содержание Mn, Zn, Cu и Fe в листьях значительно изменялось под воздействием возрастающих доз марганца в почве и в меньшей степени – под влиянием водного стресса. Так, при дозе Mn-50 мг/кг почвы содержание Mn в листьях увеличивалось по сравнению с контролем на 144,2 мг/кг сухого вещества (в контроле – 262,4 мг/кг) или на 54,9% в оптимальных условиях увлажнения почвы и в меньшей степени – при дефиците влаги в почве – соответственно на 49,6 мг/кг сухого вещества (в контроле – 246,5 мг/кг) и 20,1%. При максимальной дозе Mn - 1200 мг/кг почвы его содержание в листьях составила 728,1 мг/кг, т.е. увеличивалось на 465,7 мг/кг или на 177,5% в оптимальных условиях увлажнения почвы и соответственно на 718,9 мг/кг, 452,4 мг/кг и 169,8% - при дефиците влаги в почве. При умеренной дозе марганца (50 мг /кг) отмечен синергизм в накоплении Mn, Zn и Fe и антагонизм - в накоплении Cu. При более высоких дозах марганца, как правило, отмечен антагонизм между Mn и Zn, Cu и Fe.

Таким образом, на ранних фазах развития сахарной свеклы (6-7 листьев) умеренные дозы Mn в почве (50 мг/кг) способствуют стимулированию активности нитратредуктазы, незначительному снижению активности пероксидазы и содержания пролина в листьях. Избыток Mn (600 и 1200 мг/кг) в почве и (100 - 200 мкмоль /л) в условиях водной культуры приводит к увеличению содержания пролина в листьях, но отсутствует корреляция между возрастающими дозами марганца в среде и изменениями в содержании пролина, активности нитратредуктазы и пероксидазы в листьях.

В стрессовых условиях увлажнения (35% ПВ) умеренные дозы Mn в почве (50 мг/кг) приводят к стимулированию первичного процесса восстановления нитратов, незначительному снижению активности пероксидазы и содержанию пролина в листьях, а также к увеличению вегетативной массы растений, что указывает на более полную реализацию адаптивного потенциала растений в таких условиях. Избыток Mn в почве снижает активность нитратредуктазы, повышает активность пероксидазы и содержание пролина в листьях. При этом масса растений незначительно снижается, что свидетельствует о высокой толерантности сахарной свеклы к избытку этого тяжелого металла в среде.

#### Литература

- Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. – 1951. – Т. 16. – С. 352 – 355.
- Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. // Методы биохимического анализа растений. Ленинград. – 1987. – 430 с.
- Bates L.S., Walden R.T., Tarse I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant and Soil. – 1973. – V. 39, № 1. – P. 205–207.
- Diego M., Fischer G., Mewis I., Rohn S., Ulrichs C. Salinity effects on proline accumulation and total antioxidant activity in leaves of the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) // Journal of Applied Botany and Food Quality. – 2014. – V. 87. – P. 67–73.
- Karim R., Rahman M. A. Drought risk management for increased cereal production in Asian Least Developed Countries // Weather and Climate Extremes. – 2015. – V. 7. – P. 24–35.
- Khan R., Gul S., Hamayun M., Shah M., Sayyed A., Hussan I., Begum A., Gul H. Effect of foliar application of zinc and manganese on growth and some biochemical constituents of Brassica Juncea // American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. – 2016. – V. 16, № 5. – P. 984-997.

Pandya D.H., Mer R.K., Pandey A.N. Effect of salt stress and manganese. Supply on growth of barley seedlings // Journal of Plant Nutrition. – 2005. – V. 27, № 8 – P. 1361-1369.

Zhao H., Wu L., Chai T., Zhang Y., Tan J., Ma S. The effects of copper, manganese and zinc on plant growth and elemental accumulation in the manganese-hyperaccumulator *Phytolacca Americana* // J. Plant Physiol. – 2012. – V. 169. – P. 1243–1252.

## **ACTIVITY OF NITRATREDUCTASE, PEROXIDASE AND PROLINE CONTENT IN LEAVES OF SUGAR BEET UNDER EXCESS OF MANGANESE IN ENVIRONMENT**

S.S. Lisnic, Yu.L. Koretskaya

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Moldova, *slisnic@rambler.ru*

**Abstract.** Under stress conditions of humidification (35% total moisture in soil), moderate doses of Mn in soil (50 mg / kg) lead to stimulation of primary nitrate reduction process, slight decrease in peroxidase activity and proline content in leaves, as well as increase in vegetative mass of plants. It all indicates to a fuller adaptive potential of plants under such conditions. Excess of Mn in soil (doses 600 – 1200 mg/kg) reduces activity of nitrate reductase, increases activity of peroxidase and rises content of proline in leaves.

**Keywords:** *manganese, sugar beet, nitrate reductase, peroxidase, proline*