

Применение гербицидов для защиты посадок от сорных растений способствовало улучшению морфометрических показателей зубков луковиц чеснока. Средняя масса одного зубка – 5,44 г – оказалась наибольшей (в 3 раза выше чем в контроле) при использовании смеси гербицидов Боксер, КЭ (1,5 л/га) + Гоал 2Е, КЭ (0,2 л/га).

Товарность луковиц чеснока с обработанных гербицидами посадок составила 74–83 %. Остаточных количеств гербицидов в продукции чеснока озимого не обнаружено.

Литература

1. Волчкевич, И. Г. Обоснование системы рационального применения гербицидов в посевах лука репчатого, возделываемого в однолетней культуре: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.07 / И. Г. Волчкевич; НАН Беларуси, РУП «Ин-т защиты растений». – Прилуки, 2010. – 22 с.
2. Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): учебник / Б. А. Доспехов. – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Колесникова, В. А. Эффективность гербицидов на посевах чеснока / В. А. Колесникова, Н. А. Корецкая, В. И. Петухова // Химия в сел. хоз-ве. – 1980. – № 8. – С. 38–40.
4. Круг, Г. Овощеводство / Г. Круг; пер. с нем. В. И. Леунова. – М.: Колос, 2000. – 576 с.
5. Купреенко, Н. П. Лук и чеснок / Н. П. Купреенко. – Минск: Красико-Принт, 2009. – 96 с.
6. Лихацкий, В. И. Чеснок. Биология и технология выращивания: практ. пособие / В. И. Лихацкий. – Киев: Изд-во УСХА, 1992. – 96 с.



Измерение морфометрических показателей чеснока озимого

7. Методика полевого опыта в овощеводстве и бахчеводстве / НИИ овощного хоз-ва МСХ РСФСР, Укр. НИИ овощеводства и бахчеводства; В. Ф. Белик [и др.], под ред. В. Ф. Белика, Г. Л. Бондаренко. – М.: НИИОХ, 1979. – 210 с.
8. Методические указания по проведению регистрационных испытаний гербицидов в посевах сельскохозяйственных культур в Республике Беларусь / Науч.-практ. центр НАН Беларуси по земледелию; Ин-т защиты растений; сост.: С. В. Сорока, Т. Н. Лапковская. – Несвиж: Несвиж. укрупн. тип. им. С. Будного, 2007. – 58 с.
9. Михов, А. Чеснок / А. Михов, М. Алипиева // Практическое овощеводство. – М.: Колос, 1980. – 254 с.

УДК 634.739.3:736(476)

Влияние продолжительности светодиодного освещения на состояние протеинового комплекса микрозелени гороха овощного

А. М. Пашкевич, зав. лабораторией, А. И. Чайковский, кандидат с.-х. наук
Институт овощеводства

Ж. А. Рупасова, доктор биологических наук, В. С. Задаля, научный сотрудник
Центральный ботанический сад НАН Беларуси

В. И. Домаш, доктор биологических наук, О. А. Иванов, кандидат биологических наук,
А. А. Строгова, научный сотрудник

Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси

(Дата поступления статьи в редакцию 12.11.2021)

Приведены результаты исследования состояния белкового комплекса микрозелени гороха овощного при 8, 10, 12, 14 и 16-часовой продолжительности светодиодного освещения. Установлено отсутствие существенного влияния данного фактора на общее накопление в ней белков на фоне значительных изменений темпов биосинтеза отдельных компонентов протеинового комплекса. Показано, что в эксперименте 10-часовая экспозиция обеспечивала максимальное накопление альбуминов, глобулинов и глютенинов, тогда как 16-часовая, как и 12-часовая, принятая в качестве контроля, – проламинов. Наиболее благоприятные условия для биосинтеза белков обеспечивали 14 и в большей степени 10-часовая продолжительность светодиодного освещения, тогда как наименее благоприятные – 8 и особенно 16-часовая.

The state of the protein complex in pea microgreens at 8, 10, 12, 14, and 16-hour LED lighting times are discussed. It was shown that this factor does not significantly affect the total accumulation of proteins in microgreens against the background of significant changes in the rates of biosynthesis of individual components in the protein complex. It was shown that 10-hour exposure ensured the maximum accumulation of albumin, globulins and glutelins in the experiment, while 16-hour exposure, as well as 12-hour exposure, taken as a control – prolamins. The most favorable conditions for protein biosynthesis were provided by 14 and, to a greater extent, 10-hours of LED illumination, while the least favorable conditions were provided by 8 and especially 16-hours.

Введение

В последние годы у населения республики существенно увеличился спрос на продукцию микрорзелени овощных культур, в том числе гороха овощного, как источника широкого спектра полезных веществ. Вместе с тем увеличилось продуктивность этого ценного пищевого продукта потребовало определенного совершенствования технологии его получения, в связи с чем в 2020–2021 гг. в РУП «Институт овощеводства» были проведены эксперименты с использованием ряда режимов светодиодного освещения при выращивании данной культуры. Поскольку в метаболизме гороха овощного характерно преобладание синтеза белковых соединений, значительный научный и практический интерес представляло исследование влияния продолжительности светодиодного освещения на протеиновый комплекс микрорзелени, в том числе на основные его компоненты, представленные растворимыми (альбуминами), солерастворимыми (глобулинами), щелочерастворимыми (глутелинами) и спирторастворимыми (проламинами) белками.

Методика и объекты исследований

Исследования выполнены в рамках производственного эксперимента в условиях светокультуры при выращивании микрорзелени гороха овощного (сорт Павлуша) с использованием светодиодного освещения продолжительностью 8, 10, 12, 14 и 16 час. В качестве контроля было принято значение фотопериода, равное 12 час.

В образцах микрорзелени гороха определяли общее содержание протеинов методами формольного и потенциометрического титрования с введением поправочных коэффициентов [6] и предварительным проведением гидролиза белков в соответствии с протоколами пробоподготовки образцов для аминокислотного анализа [3]. Определение белкового состава микрорзелени гороха осуществляли электрофоретическим методом (ПААГ-электрофорез) [11]. Содержание альбуминов (растворимых белков) определяли по методу, представленному в работе М. М. Bradford [10]. Выделение их из 3 г сырого растительного материала, предварительно растертого в жидком азоте, проводили с использованием в качестве экстрагента 15 мл 0,1 М NaCl при температуре +4 °С в течение 2 час. при постоянном помешивании. Калибровочную кривую для количественного определения данных белков в исследуемых образцах строили по БСА (бычьему сывороточному альбумину) в концентрации от 10 до 500 мкг/мл. Выделение общего белка для получения электрофоретического спектра проводили по методу, изложенному в работе W. Wang [et al.] [9], а выделение альбуминов, глобулинов, глутелинов и проламинов – по методам, представленным в работе К. П. Петрова [6]. Для выполнения ПААГ-электрофореза выделенные фракции белков осаждали ацетоном при температуре 20 °С в течение 15 час., осадок подсушивали и растворяли в 6 М мочеvine. Содержание ингибиторов трипсина (мг/г) определяли в соответствии с ГОСТ 33427-2015 (ISO 14902: 2001) [4].

Все измерения и определения выполнены в 2-кратной биологической и 3-кратной аналитической повторности с последующей статистической обработкой экспериментальных данных по методике, принятой для биологи-

ческих исследований [7] с использованием программы Microsoft Office Excel 2007 [1].

Результаты исследований и их обсуждение

При изучении белкового состава микрорзелени гороха овощного значительный научный и практический интерес представляло определение содержания белков – ингибиторов протеиназ, поскольку они принадлежат к большой группе белковых соединений, характеризующихся общей способностью к образованию с ферментами обратимых белок–белковых комплексов, в которых ферменты утрачивают присущую им активность. Белковые ингибиторы участвуют в регуляции активности эндогенных протеиназ, выступают в качестве защитных агентов, нейтрализующих активность протеиназ насекомых – вредителей и патогенных микроорганизмов, а также являются значимыми антипитательными факторами [2].

Наряду с этим ингибиторы протеиназ обладают антиоксидантными свойствами, что играет немаловажную роль в повышении устойчивости растений к стрессовым факторам. Большинство известных и охарактеризованных белков – ингибиторов являются ингибиторами сериновых протеиназ и способны подавлять активность трипсина. Тем не менее в образцах микрорзелени гороха овощного, выращенных при разной продолжительности светодиодного освещения, не обнаружено проявления активности ингибиторов трипсина. С высокой долей уверенности можно предположить, что на ранних стадиях развития растений гороха овощного ингибиторы сериновых протеиназ либо отсутствуют, либо присутствуют в крайне незначительных количествах, участвуя в некоторых эндогенных биохимических процессах. Поскольку ингибиторы трипсина являются стресс-индуцируемыми белками, можно также предположить, что опытные растения не испытывали состояния стресса при любой продолжительности светодиодного освещения.

Результаты электрофореза протеинов в образцах микрорзелени гороха при разной продолжительности светодиодного освещения представлены на рисунке 1. Стрелками указаны отсутствующие белковые зоны с молекулярным весом ~80 кДа при 8 и 10-часовой экспозиции. Заметим, что результаты электрофорезов отдельных белковых фракций в микрорзелени гороха (альбуминов, глобулинов, проламинов, глутелинов) показали, что отсутствующие белковые зоны в этих образцах соответствовали одной из групп глобулинов (рисунок 2, 3). Установлено также, что все фракции белков характеризовались гетерогенным составом и включали белки с различным молекулярным весом. При этом различия в интенсивности отдельных белковых зон на электрофореграммах соответствующих белковых фракций свидетельствовали о неравномерном их распределении в анализируемых образцах микрорзелени гороха.

Как следует из рисунка 2 А, фракция глобулинов представлена набором белков, обладающих широким диапазоном варьирования молекулярного веса в области 14–85 кДа. При этом лишь для вариантов опыта с продолжительностью освещения от 12 до 16 час. для данной белковой фракции выявлено не менее 12 электрофоретических зон. Результаты электрофореза, представленные на рисунке 2 Б, показали, что альбумины в образцах микрорзелени гороха представлены 8-ю

белковыми зонами, расположенными в диапазоне молекулярных весов 8–70 кДа. Анализ электрофореграммы 3 А показал, что в исследуемых образцах микрозелени гороха глютелины достаточно равномерно распределены по белковому спектру и представлены не менее чем 17-ю зонами, расположенными в диапазоне молекулярных весов 20–75 кДа.

Несмотря на то что в литературных источниках нет указаний на присутствие проламинов в проростках бобовых культур [5, 8], нами были выделены спирторастворимые белки, представленные на электрофореграмме 3 Б низкомолекулярными (8–10 кДа) белковыми зонами.

Вместе с тем в исследуемых образцах микрозелени гороха обнаружено весьма высокое содержание протеинов и наиболее ценной усвояемой их части – растворимых белков (альбуминов), варьировавшееся в рамках эксперимента в мг/г сухой массы в диапазонах 412,3–443,4 и 8,38–18,0 при изменении содержания

глобулинов, глютелинов и проламинов в соответствующих диапазонах значений – 2,25–6,82; 0,82–1,27 и 1,02–1,26 мг/г (таблица).

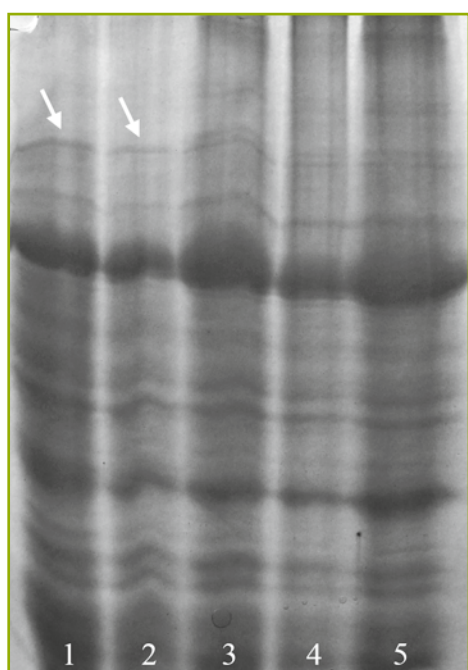


Рисунок 1 – Электрофореграмма протеинового комплекса микрозелени гороха овощного в 15 % ПААГ при продолжительности светодиодного освещения: 1–8 час., 2–10 час., 3–12 час., 4–14 час., 5–16 час.

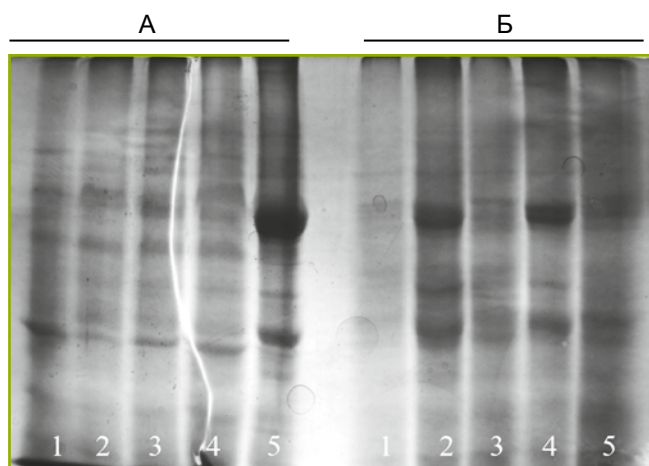


Рисунок 2 – ПААГ-электрофореграмма глобулинов (А) и альбуминов (Б) в микрозелени гороха овощного при продолжительности светодиодного освещения: 1–8 час., 2–10 час., 3–12 час., 4–14 час., 5–16 час.

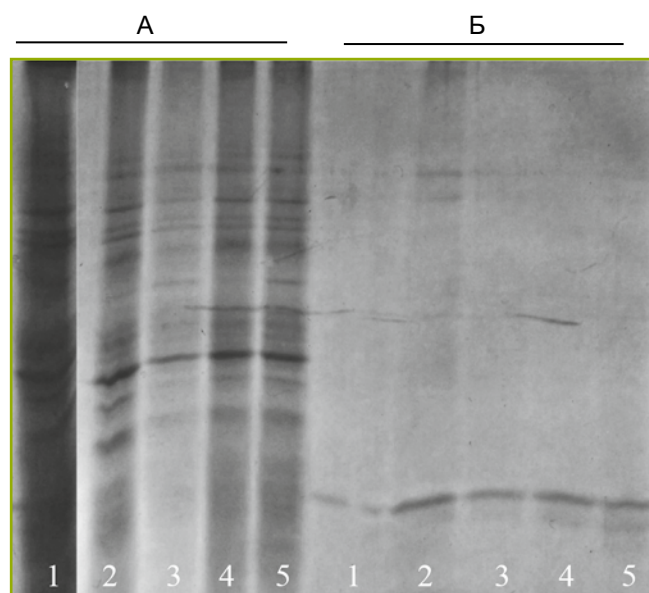


Рисунок 3 – ПААГ-электрофореграмма глютелинов (А) и проламинов (Б) в микрозелени гороха овощного при продолжительности светодиодного освещения: 1–8 час., 2–10 час., 3–12 час., 4–14 час., 5–16 час.

Относительные различия с контролем вариантов опыта с разной продолжительностью светодиодного освещения по содержанию действующих веществ в сухом веществе микрозелени гороха овощного

Показатель	Относительные различия с контролем по содержанию д. в. в сухом веществе, %			
	варианты по продолжительности светодиодного освещения			
	8 час.	10 час.	14 час.	16 час.
Общий белок	-3,2	+4,1	+1,7	+3,1
Альбумины	-12,7	+14,3	-	-46,8
Глобулины	-	+87,9	+26,7	-38,0
Глютелины	-	+27,0	+21,0	-18,0
Проламины	-13,5	-17,5	-19,0	-
Совокупный эффект	-29,4	+115,8	+30,4	-99,7

Примечание – Прочерк означает отсутствие статистически значимых по t-критерию Стьюдента различий с контролем при $p < 0,05$.

Заметим, что продолжительность светодиодного освещения не оказывала существенного влияния на общее накопление белков в микрозелени гороха, что подтверждалось невысокой его вариабельностью в рамках эксперимента, обусловившей маловыразительные, хотя и достоверные, различия тестируемых вариантов опыта с контролем по данному признаку, не превышавшие 2–4 % (таблица). При этом только наименьшая 8-часовая продолжительность светодиодного освещения незначительно (не более чем на 3 %) снижала их содержание, тогда как при увеличении времени воздействия данного фактора на опытные растения наблюдалось усиление накопления протеинов на 2–4 % относительно контроля, наибольшее – при 10-часовой экспозиции.

Тем не менее продолжительность светодиодного освещения оказала весьма существенное влияние на темпы накопления отдельных фракций белковых соединений. В отношении наиболее ценной среди них – альбуминов – обнаружен весьма ощутимый ингибирующий эффект, в наибольшей степени проявившийся на фоне 8-часовой и особенно 16-часовой экспозиции, что подтверждалось снижением их содержания по сравнению с контролем соответственно на 13 и 47 % (таблица). Что касается 10 и 14-часовой продолжительности светодиодного освещения, то в первом случае наблюдалась активизация накопления альбуминов на 14 %, тогда как во втором – отсутствие изменений относительно контроля.

Несмотря на чрезвычайно малое содержание в микрозелени гороха остальных компонентов белкового комплекса, влияние исследуемого фактора на их накопление все же было весьма выразительным. Так, если 8-часовая продолжительность освещения не оказала достоверного влияния на накопление глобулинов и глютенинов, то 10 и 14-часовая значительно активизировали их биосинтез, особенно первых, что подтверждалось увеличением содержания данных соединений относительно контроля соответственно на 27–88 % и 21–27 %. С увеличением же времени воздействия освещения до 16 час. наблюдался уже обратный эффект – снижение их содержания на 38 % и 18 % (таблица). Что касается проламинов, то во всех вариантах опыта, кроме варианта с 16-часовым освещением, выявлено отставание параметров их накопления от контроля на 14–19 %. Таким образом, 10-часовая продолжительность светодиодного освещения обеспечивала максимальное в эксперименте общее накопление белков, а также альбуминов, глобулинов и глютенинов, тогда как 16-часовая, как и 12-часовая, принятая в качестве контроля, – проламинов.

С целью выявления продолжительности светодиодного освещения, обеспечившей наиболее выраженное позитивное и соответственно негативное влияние на протеиновый комплекс микрозелени гороха овощного, был определен совокупный эффект на основе суммирования относительных размеров положительных и отрицательных расхождений с контролем его количественных характеристик (таблица). При этом было установлено, что наиболее благоприятные условия для биосинтеза белковых соединений в данной продукции обеспечивали 14 и в большей степени 10-часовая

продолжительности светодиодного освещения, тогда как наименее благоприятные – 8-часовая и особенно 16-часовая.

Выводы

1. В результате исследования состояния белкового комплекса микрозелени гороха овощного при 8, 10, 12, 14 и 16-часовой продолжительности светодиодного освещения не обнаружено проявления активности ингибиторов трипсина, что позволяет предположить отсутствие влияния данного фактора на проявление стресса у опытных растений.

2. На основании результатов электрофореза установлен гетерогенный состав всех фракций белков с присутствием компонентов с различным молекулярным весом. При этом продолжительность светодиодного освещения не оказала существенного влияния на общее содержание белков в микрозелени гороха, но вызвала значительные изменения в темпах биосинтеза отдельных компонентов протеинового комплекса. Показано, что 10-часовая экспозиция обеспечивала максимальное в эксперименте накопление альбуминов, глобулинов и глютенинов, тогда как 16-часовая, как и 12-часовая, принятая в качестве контроля, – проламинов.

3. Установлено, что наиболее благоприятные условия для биосинтеза белковых соединений в микрозелени гороха овощного обеспечивали 14 и в большей степени 10-часовая продолжительность светодиодного освещения, тогда как наименее благоприятные – 8-часовая и особенно 16-часовая.

Литература

1. Боровиков, В. П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов / В. П. Боровиков. – СПб.: Питер, 2001. – 656 с.
2. Ингибиторы протеиназ из растений как полифункциональные белки (обзор) / В. В. Мосолов [и др.] // Прикл. биохим. микробиол. – 2001. – Т. 37, № 6. – С. 643–650.
3. Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот: ГОСТ 32195–2013. – Введ. 01.07.2015. – Москва: Стандартинформ, 2014. – 23 с.
4. Корма. Определение трипсинингибирующей активности в продуктах из сои: ГОСТ 33427–2015 (ISO 14902:2001). – Введ. 01.01.2017. – Москва: Стандартинформ, 2016. – 16 с.
5. Кретович, В. Л. Биохимия растений: учебник / В. Л. Кретович. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1986. – 503 с.
6. Петров, К. П. Метод формольного титрования со смешанными индикаторами / К. П. Петров // Методы биохимии растительных продуктов: учеб. пособие / Киев: Вища школа, 1978. – С. 16–18.
7. Теория вероятностей и математическая статистика. Математические модели: учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений / В. Д. Мятлев [и др.]. – М.: Академия, 2009. – 320 с.
8. Хельдт, Г. В. Биохимия растений / Г. В. Хельдт; пер. с англ. Т. А. Власова [и др.], под ред. Л. А. Аксенова. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 471 с.
9. A universal and rapid protocol for protein extraction from recalcitrant plant tissues for proteomic analysis / W. Wang [et al.] // Electrophoresis. – 2006. – Vol. 27. – P. 2782–2786.
10. Bradford, M. M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding / M. M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 8. – P. 248–254.
11. Laemmli, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nat. – 1970. – Vol. 227. – P. 680–685.