

УДК 581.133.8:631.81.095.337

І. П. ЯКУБА, О. Б. ПАУЗЕР

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Шампанський провулок 2, Одеса, 65058

ПОКАЗНИКИ ОКИСНО-ВІДНОВНИХ ПРОЦЕСІВ У ПРОРОСТКАХ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР ЗА ДІЇ ПРЕПАРАТУ ФІТОЦИД

Фітоцид покращує фізіологічний стан та ріст проростків огірків і томатів у лабораторних умовах, також викликає підвищення вмісту аскорбінової кислоти в проростках. При цьому за вирощування проростків на чашках Петрі спостерігається підвищення активності аскорбатоксидази, пероксидази, поліфенолоксидази та каталази, проте, за вирощування в ґрунті активність даних ферментів за дії Фітоциду знижується. Отримані дані свідчать про активацію антиоксидантної системи рослин діючим компонентом препарату.

Ключові слова: Фітоцид, проросток, аскорбатоксидаза, пероксидаза, поліфенолоксидаза, каталаза

Препарати для захисту рослин на основі *Bacillus subtilis* - це екологічно безпечний, економічно вигідний сучасний засіб підвищення продуктивності сільськогосподарських культур [3, 4, 9]. Фітоцид є одним з таких препаратів, вирощання його як засобу підвищення стійкості культурних рослин до хвороб та несприятливих умов середовища актуальне в органічному землеробстві та у приватних господарствах. Поширення Фітоциду на ринку біопрепаратів вимагає не тільки досконалого аналізу його ефективності у конкретних агрокліматичних умовах, але й вивчення механізмів впливу препарату на різні сільськогосподарські рослини. Недостатньо досліджені біохімічні наслідки обробки рослин препаратом, зокрема реакція окисно-відновних процесів у рослинах на присутність компонентів Фітоциду. Вивчення цього питання допоможе глибше розкрити механізм його позитивної дії. Тому метою даного дослідження було визначити дію препарату Фітоцид на показники окисно-відновних процесів в проростках огірка та томатів.

Матеріал і методи досліджень

Вплив Фітоциду на окисно-відновні процеси в проростках огірків та томатів вивчали в лабораторних умовах. Матеріалом дослідження були насіння та 7-ми добові проростки огірка сорту Конкурент та томатів сорту Факел. Біопрепарат Фітоцид застосовували шляхом передпосівної обробки насіння розчином, що містить 10^6 - 10^7 клітин бактерій на мл. Обробку здійснювали шляхом намочування у розчині препарату протягом 2 годин із подальшим висушуванням та висаджуванням, згідно рекомендацій виробника. У дослідженні використовували Фітоцид – Р, діючий чинник – живі клітини і спори природної ендofітної бактерії *Bacillus subtilis* в кількості від 1×10^9 до 1×10^{10} КОУ/см³ та їх активні метаболіти: ферменти, вітаміни, фунгіцидні речовини, макро- і мікроелементи. Виробник: ПП «БТУ-Центр» Україна, Вінницька обл., м. Ладижин [9]. Дослід включав 2 варіанти: Контроль – насіння обробляли водою, та Фітоцид – насіння обробляли розчином препарату. Проростки отримували у лабораторних умовах на чашках Петрі на воді та у пластикових ємкостях 100 мл на ґрунті. Повторність досліду трикратна, по 300 проростків в повторності. Результати оброблені за допомогою статистичних функцій Excel MS Office. Достовірність різниці із контролем оцінювали за критерієм Стьюдента [5].

У 7-мидобових проростках визначали наступні показники їх фізіологічного стану: схожість насіння (обліковим методом), масу проростків (зважуванням на електронних лабораторних вагах «Техно-ваги» ТУ У 29.2-32126739-003:2005.), вміст хлорофілу (спектрофотометрично, у спиртовій витяжці, розраховували вміст пігментів за формулами Вінтерманс де Мотс), сухої речовини (ваговим методом після висушування у сушильній шафі Wamed 4m), білків за Лоурі, аскорбінової кислоти за Прокошевим. Визначали наступні показники окисно-відновних процесів у проростках: активність аскорбатоксидази спектрофотометрично за ступенем окиснення аскорбінової кислоти, активність пероксидази по

Бояркіну спектрофотометрично за швидкістю окиснення бензидину, активність каталази по Баху і Опаріну титриметрично за швидкістю ферментативно розкладеного перекису, поліфенолоксидази спектрофотометрично за швидкістю утворення продуктів окиснення пірокатехіну [8]. Спектрофотометричні дослідження проводили на спектрофотометрі ПЭ5400УФ.

Результати досліджень та їх обговорення

Передпосівна обробка насіння огірків та томатів препаратом Фітоцид призводить до проникнення в насіння з культуральної рідини продуктів метаболізму бактерій, що містяться в препараті, а також інокуляції насіння бактеріями *Bacillus subtilis* [1]. За дотримання методики використання препарату та догляду за рослинами, бактерії починають розмножуватись на поверхні рослин та зберігаються в ризосфері, ризоплані та фітоплані протягом онтогенезу рослин [7]. Створюються умови для безпосереднього контакту клітин рослини та бактерій; продуктів життєдіяльності бактерій та клітин рослини. Таким чином, препарат Фітоцид починає впливати на процеси життєдіяльності рослин з моменту обробки. Дане явище можна спостерігати під час визначення схожості насіння огірків та томатів, оброблених препаратом. У нашому дослідженні при вирощуванні проростків, інокульованих препаратом, на чашках Петрі спостерігали зниження схожості огірків та томатів на 8 та 12 %. Це може бути пов'язано із занадто інтенсивним розмноженням бацил в умовах чашки Петрі, завдяки чому концентрація їх продуктів життєдіяльності була високою та спричиняла інгібуєчий вплив на процеси проростання насіння. В вегетаційних посудинах з ґрунтом у якості субстрату для вирощування проростків спостерігали достовірно підвищення схожості томатів на 9 %, в огірків – 6 %. Це дозволяє припустити, що в умовах ґрунтового проростання насіння концентрація бактерій на поверхні проростів та концентрація їх метаболітів є оптимальною для стимулюючої дії на процеси проростання насіння та збереження життєздатності проростків.

Припущення про активацію метаболічних процесів рослин продуктами життєдіяльності бактерій препарату Фітоцид підтверджується даними, отриманими за накопиченням ваги проростками огірків та томатів. Фітоцид призводить до зростання сирієї ваги проростків як на чашках Петрі, так і на ґрунті, в огірка на 12 і 13 % та в томатів на 71 і 25 %. Такий приріст ваги проростків можна пояснити виділенням бацилами ріст активуючих фізіологічно-активних речовин, зокрема вітамінів та ауксинів.

Фітоцид стимулює накопичення хлорофілу в проростках огірка та томатів (табл. 1). На чашках Петрі спостерігали підвищення вмісту в проростках огірка хлорофілу *a* – на 78 %, хлорофілу *b* –25 %, суми хлорофілів – 34 %; в проростках томатів хлорофілу *a* – 16 %. На ґрунті спостерігали підвищення вмісту в проростках огірка суми хлорофілів на 6 %; у проростках томатів хлорофілу *a* – 20 та суми хлорофілів на 13 %.

Про кращий фізіологічний стан проростків за дії Фітоциду свідчать і показники вмісту сухої речовини та білків (табл. 1). Фітоцид знижує вміст сухої речовини у проростках, отриманих на ґрунті: огірків – на 30 %, томатів – на 20 %. Це свідчить про їх краще обводнення та узгоджується із даними про сирію вагу проростків. У проростках на чашках Петрі спостерігали підвищення вмісту білків: в огірка – на 42 % та в томатів – на 44 %. Це свідчить про те, що присутність бацил провокує інтенсивний біосинтез білкових молекул в клітинах рослин, зокрема, ними можуть бути молекули ферментів залучених до фотосинтезу, інших біосинтетичних процесів (про що свідчать викладені вище дані за накопиченням хлорофілу та сирієї ваги) а також окисно – відновних ферментів [6]. Зважаючи на те, що Фітоцид є індуктором стійкості рослин [9], доцільним є докладне вивчення ферментів антиоксидантної системи рослин.

Антиоксидантна система рослин включає ферментативні та не ферментативні компоненти. Одним з основних не ферментативних компонентів є аскорбінова кислота [10]. Передпосівна обробка Фітоцидом підвищує вміст аскорбату в проростках огірка як на чашках Петрі так і в ґрунті на 40 %, у проростках томатів відповідно – на 15 та 22 % (табл. 1).

Вміст хлорофілу, білків (мг/г), сухої речовини (%) та аскорбату (мг%) в проростках огірків та томатів за дії Фітоциду в лабораторних умовах

Показник	Чашки Петрі		Вегетаційні посудини	
	Контроль	Фітоцид	Контроль	Фітоцид
Огірки				
Хлорофіл <i>a</i>	0,435 ± 0,015	0,775 ± 0,025*	0,892 ± 0,012	0,930 ± 0,017
Хлорофіл <i>b</i>	0,433 ± 0,010	0,540 ± 0,033*	0,460 ± 0,025	0,502 ± 0,015
Сума хлорофілів	0,970 ± 0,023	1,305 ± 0,053*	1,355 ± 0,023	1,437 ± 0,022*
Суша речовина	10 ± 0,8	12 ± 0,5	14 ± 1,2	10 ± 0,3*
Білки	19,0 ± 1,0	27 ± 1,0*	9,4 ± 0,5	8,9 ± 0,5
Аскорбат	141,1±5,2	194,3±4,8*	175,7±8,2	246,3±6,7*
Томати				
Хлорофіл <i>a</i>	0,405 ± 0,010	0,470 ± 0,015*	0,517 ± 0,012	0,620 ± 0,012*
Хлорофіл <i>b</i>	0,450 ± 0,015	0,406 ± 0,010	0,495 ± 0,010	0,520 ± 0,010
Сума хлорофілів	0,856 ± 0,031	0,870 ± 0,025	1,003 ± 0,015	1,135 ± 0,013*
Суша речовина	15 ± 0,5	16 ± 0,7	13 ± 0,5	10 ± 0,3*
Білки	16 ± 0,7	23 ± 0,8*	7,4 ± 0,5	7,4 ± 0,5
Аскорбат	123,4±4,2	141,5±1,6*	158,3±7,9	194,2±6,4*

Примітка: тут і далі:* - достовірність різниці з контролем з вірогідністю 95% та вище.

Аскорбінова кислота може інактивувати вільні радикали як прямо (без апофермента), так і в якості кофактора аскорбатоксидази [10]. На чашках Петрі в проростках огірка та томатів спостерігали підвищення активності аскорбатоксидази на 61 та 20 %, відповідно. Тобто в умовах чашок Петрі проростки потерпають від суттєвого окисного стресу.

У ґрунті активність ферменту в проростках огірка та томатів знижується на 65 та 52 %, відповідно (рис. 1). Зважаючи на покращення фізіологічних показників та підвищення вмісту аскорбату, можна говорити що Фітоцид в проростках на ґрунті призводить до зниження інтенсивності окисних вільно радикальних процесів у рослинах. Таким чином, оброблені Фітоцидом проростки, які вирощують у ґрунті знаходяться у кращому фізіологічному стані та більш витривалі до комплексу умов вирощування, ніж контрольні.

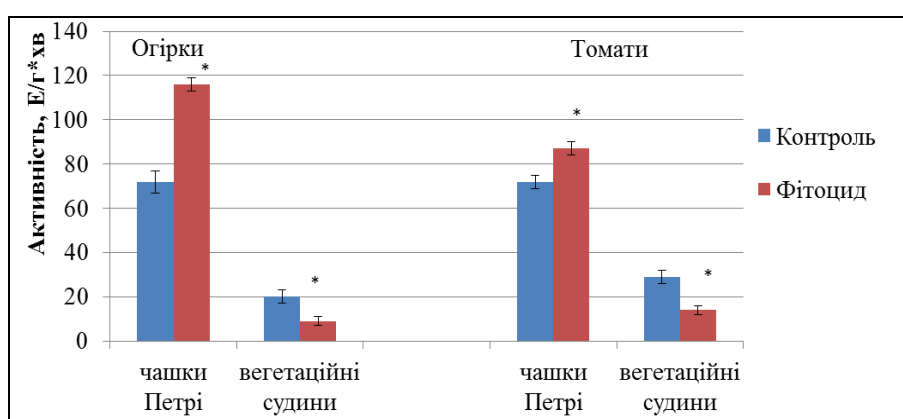


Рис. 1. Активність аскорбатоксидази в проростках огірків та томатів за передпосівної обробки насіння препаратом Фітоцид.

Збільшення активності пероксидази зв'язане з утилізацією перекису водню, який утворюється в процесі посиленого дихання уражених тканин, та токсично впливає на рослинні тканини. Комплекс пероксидаза-фенол-хінони-поліфенолоксидаза утворює один із активних фізіологічних механізмів, що беруть участь у захисті рослин від уражень хворобами [2].

Активність пероксидази на чашках Петрі збільшувалась в огірка на 50 % та в томатів на 25 %. На ґрунті активність пероксидази зменшувалась на 50 % в огірка та томатів (рис. 2). Активність поліфенолоскидази мала тенденцію до зростання в проростках огірка на чашках та підвищувалась у проростках томатів на 25 %. У ґрунті активність поліфенолоскидази в огірка мала тенденцію до зниження за дії Фітциду та достовірно знижувалась у томатів на 32 % (рис. 3). Отримані нами дані активності пероксидази та поліфенолоскидази показують закономірність, аналогічну до тої, що спостерігали при вивченні активності аскорбатоксидази.

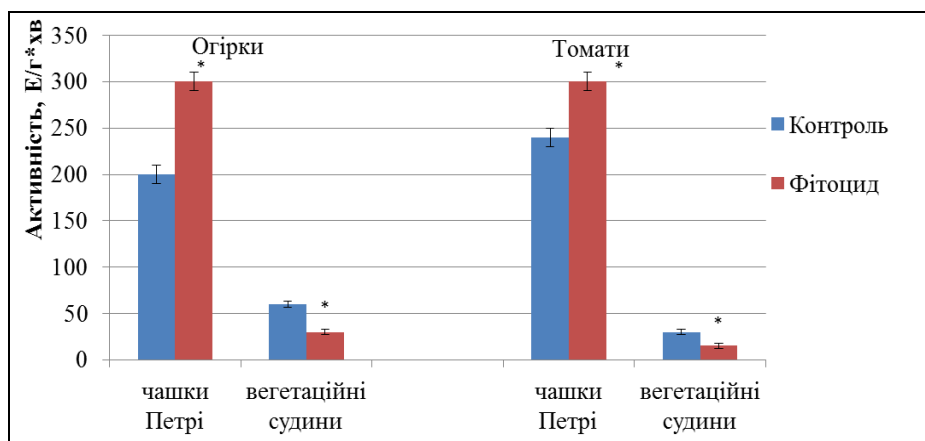


Рис. 2. Активність пероксидази в проростках огірків та томатів за передпосівної обробки насіння препаратом Фітоцид.

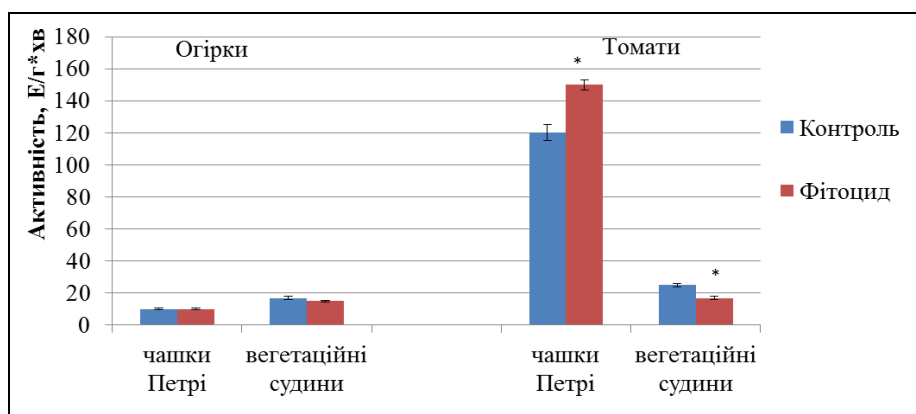


Рис. 3. Активність поліфенолоскидази в проростках огірків та томатів за передпосівної обробки насіння препаратом Фітоцид.

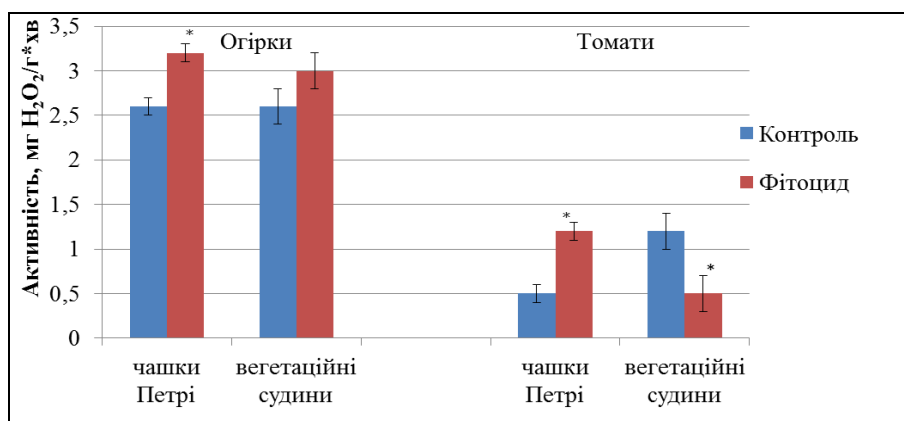


Рис. 4. Активність каталази в проростках огірків та томатів за передпосівної обробки насіння препаратом Фітоцид.

Каталаза розкладає перекис водню, який виникає під час стресових реакцій, зокрема її активність зростає під час активації окиснення ліпідів та фотодихання [10]. Активність ферменту підвищувалась у проростках огірка на чашках Петрі на 23 % та томатів на 140%. Каталазна активність знижувалась в проростках томатів на ґрунті на 58 % (рис. 4).

Зміни активності аскорбатоксидази, пероксидази, поліфенолоксидази та каталази свідчать про суттєву активацію антиоксидантної системи та перебіг стресу в проростках за впливу Фітоциду на чашках Петрі та зниження стресового тиску завдяки Фітоциду у ґрунті.

Таким чином, біопрепарат Фітоцид на основі *Bacillus subtilis* імунізує рослину шляхом формування неспецифічної системної стійкості щодо збудників хвороб, та ряду несприятливих факторів навколишнього середовища, таких як посуха, низькі й високі температури та інше. Це відбувається завдяки тому що мікробні біопрепарати викликають невеликий стрес у рослин, який загартовує рослину на майбутнє і стимулює в ній утворення окисно – відновних ферментів, які лежать в основі неспецифічної стійкості рослин [3,9,10].

Ми припускаємо, що даний механізм працює при використанні Фітоциду для передпосівної обробки насіння овочевих культур. В лабораторних умовах Фітоцид покращує фізіологічний стан і ріст проростків огірків та томатів, підвищуючи схожість, вагу проростків, вміст хлорофілу і білків та знижуючи вміст сухої речовини. Обробка Фітоцидом викликає підвищення вмісту аскорбінової кислоти в проростках. При цьому за вирощування проростків на чашках Петрі спостерігається підвищення активності аскорбатоксидази, пероксидази, поліфенолоксидази та каталази, проте, за вирощування в ґрунті активність даних ферментів за дії Фітоциду знижується. Отримані дані свідчать про активацію антиоксидантної системи рослин діючим компонентом препарату. На чашках Петрі проростки знаходяться під більшим тиском стресу, спричиненого метаболітами бактерій препарату, та знаходяться на початкових етапах адаптації. На ґрунті інтенсивність впливу діючого компоненту препарату дещо нижча, стан проростків можна охарактеризувати як перебіг кінцевих етапів адаптації до стресу та перехід до стабільного рівню метаболізму з перевагою анаболічних процесів.

Відмічені закономірності викликають інтерес до вивчення впливу препарату на активність окисно-відновних ферментів у відкритому ґрунті протягом онтогенезу.

Висновки

1. Передпосівна обробка насіння огірків та томатів біопрепаратом Фітоцид покращує фізіологічний стан проростків, підвищуючи схожість, сиру масу, вміст сухої речовини, хлорофілів, білків та аскорбінової кислоти.
2. Фітоцид змінює активність окисно-відновних ферментів у проростках: підвищує активність пероксидази, каталази, поліфенолоксидази, аскорбінаоксидази у 1,5-2 рази на чашках Петрі та знижує на аналогічні величини зазначені показники у ґрунті.
3. Припускається, що підвищення стійкості рослин за впливу препарату пов'язано із зміною активності окисно-відновних ферментів.

1. *Абизгильдина Р. Р.* Влияние *Bacillus subtilis* 26D и салициловой кислоты на устойчивость растений пшеницы к септориозу / Абизгильдина Р. Р., Бурханова Г.Ф., Максимов И.В. // Всероссийский симпозиум «Растения и стресс». Тезисы докладов. — Москва, 2010. — С. 23—24.
2. *Андреева В. А.* Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений / Андреева В. А. — М.: Наука, 1988. — 128 с.
3. *Волкогон В. В.* Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика / Волкогон В. В., Надкернична О. В., Ковалевська Т. М. — К.: Аграрна наука, 2006. — 312 с.
4. *Гусева Г. В.* Биологический метод защиты растений / Г.В. Гусева, В.А. Щепитильникова. — Л.: ВИЗР, 1975. — 232 с.
5. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта / Доспехов Б. А. — М.: Колос, 1985. — 389 с.
6. *Косаківська І. В.* Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків / Косаківська І.В., Голов'яно І.В. // Укр. фітоценологічний збірник. — Київ, 2006. — Сер. С, Вип. 24. — С. 3—17.
7. *Малиновська І. М.* Стан мікробіоценозу ризосфери ріпаку і соняшнику за бактеризації насіння альобактерином і поліміксобактерином / Малиновська І. М., Усманова Г. О. // Зб. наук. праць Інституту землеробства УААН.— 2004. — Вип. 2-3. — С. 74—77.

8. *Методы биохимического исследования растений* / [А. И. Ермакова, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош и др.]; Под ред. А. И. Ермакова. - 3-е изд., перераб. и доп. — Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. — 439 с.
9. *Фитоцид-Р* биофунгицид широкого спектра действия [Электронный ресурс] — Назва з титул. екрану. — Режим доступу: <http://btu-center.com/ru/products>
10. *Чиркова Т. В.* Физиологические основы устойчивости растений / Чиркова Т. В. — СПб.: Изд-во С-Пб. Ун-та, 2002. — 244 с.

И. П. Якуба, Е. Б. Паузер

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПРОРОСТКАХ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРЕПАРАТА ФИТОЦИД

В лабораторных условиях Фитоцид улучшает физиологическое состояние и рост проростков огурцов и томатов, а также вызывает повышение содержания аскорбиновой кислоты. При выращивании проростков на чашках Петри наблюдается повышение активности аскорбатоксидазы, пероксидазы, полифенолоксидазы и каталазы, однако, при выращивании в почве активность данных ферментов под действием Фитоцида снижается. Полученные данные свидетельствуют об активации антиоксидантной системы растений действующим компонентом препарата.

Ключевые слова: Фитоцид; проростки; аскорбатоксидаза; пероксидаза; полифенолоксидаза; каталаза

I. P. Yakuba, O. B. Pauzer

Odesa Mechnikov National University, Ukraine

INDICES OF REDUCTION AND OXIDATION PROCESSES IN THE SPROUTS OF VEGETABLE PLANTS EFFECTED BY PREPARATION PHYTOCID

Phytocid is a microbiological preparation containing *Bacillus subtilis*. It's effective for various agricultural plants and known to be safe for environment and profitable. One of the mechanisms of its action is induction of non-specific stress-resistance of plants. At the same time the details of this influence need deeper investigation. That's why the goal of the research was to study influence of Phytocid on the parameters of the oxidation-reduction processes in the sprouts of cucumber and tomato plants. Phytocid was applied through the pre-saw damping of seeds by the solution 10^6 - 10^7 bacterial cells per ml as well as their metabolites and spores. Sprouts were obtained in the laboratory conditions on Petri dishes and in the containers with soil. Seven days sprouts were analyzed and following results are received: in the laboratory conditions Phytocid improves physiological condition and growth of the sprouts of cucumbers and tomatoes and causes increasing of ascorbic acid content in the sprouts; application of Phytocid results in growing activity of ascorbatoxidase, peroxidase, poliphenoloxidase and catalase in sprouts grown on Petry cups, and decreasing activity in the soil-grown sprouts. The obtained data is an evidence of activation of the anti-oxidant system of the plants by the active component of Phytocid. Bacterial preparation cause moderate stress in plants that induce adaptation processes. We hypothesize that on the Petri dishes the sprouts are subjected to bigger stress pressure, caused by the bacteria and live through the primal stages of the adaptation process. While on the soil the intensiveness of the Phytocid influence is less and the condition of the sprouts can be characterized as latter stages of adaptation on the way to the stable level of metabolism.

Keywords: Phytocyd; sprouts; ascorbatoxidase; peroxidase; poliphenoloxidase; catalase

Рекомендує до друку

Надійшла 27.01.2017

В. В. Грубінко