

КОЛЕСНИКОВ М.О., канд. с.-г. наук

Таврійський державний агротехнологічний університет

e-mail: anirouz@mail.ru

ВПЛИВ АНТИОКСИДАНТНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДАЦІЇ ТА РІСТ ЯЧМЕНЮ ПРИ ЗАСОЛЕННІ

Показано, що препарат АКМ за передпосівної обробки насіння ячменю сприяє підвищенню схожості, збільшує масу і довжину проростків, знижує вміст ТБК-АП, активізує діяльність каталази в ендоспермі та органах зародкової вісі ячменю на ранніх етапах проростання.

Ключові слова: антиоксидант, пероксидація, каталазна активність, морфометричні показники, ячмінь.

Серед факторів ризику, засолення земель є одним з головних в умовах аридизації клімату, що є актуальним для півдня України. За даними Державного земельного кадастру, в Україні нараховується понад 4 млн га ґрунтів з підвищеним вмістом солей, зокрема 2,8 млн га солонцевих ґрунтів, 2 млн га з яких використовуються в ріллі і ці площі постійно збільшуються внаслідок незбалансованого землекористування.

Осмотичний шок, який зумовлюється високими концентраціями солей, призводить до порушень життєво важливих функцій, таких як клітинний розподіл, продихова провідність, асиміляція карбону, поглинання елементів мінерального живлення та може дезінтегрувати клітинні мембрани, пригнічувати активність ферментів [1]. У разі сольового стресу зростає концентрація АФК у клітинах, що посилює процеси пероксидації та активує функціонування антиоксидантної системи рослинного організму. Високі концентрації солей, подібно багатьом іншим стресорам інгібують ріст рослин [2]. Значні площі посівів продовольчих злакових культур в Україні знаходяться на ґрунтах різного ступеня засолення. Тому з'ясування механізмів підвищення стійкості сільськогосподарських рослин до сольового стресу дозволить розробити ефективні методи та способи їх захисту від негативної дії цього стресового чинника.

Одним з можливих способів нівелювання сольового стресу, а відтак й активізації ростових процесів є застосування регуляторів росту антиоксидантного типу. В Україні ведеться розробка та впровадження нових адаптогенів різного походження. В попередніх дослідженнях відмічена ефективність застосування антиоксидантної композиції АКМ для стимуляції проростання насіння та підвищення врожаїв [3], але в умовах засолення це питання не вивчалось.

Тому **метою роботи** було з'ясування особливостей впливу препарату АКМ на вміст продуктів пероксидації (ТБК-АП), каталазну активність та деякі морфометричні показники під час проростання насіння ячменю за умов лабораторного натрій-хлоридного засолення.

Матеріал і методика дослідження. Дослідження проводили з використанням насіння ячменю ярого (*Hordeum v.*) сорту Прерія (врожай 2010 р., одержаний у Генічеському районі Херсонської області). Насіння ячменю пророщували на фільтрувальному папері в чашках Петрі за контрольованої температури (20–25 °С) і освітленості (4000 лк) в умовах 14-годинного фотоперіоду протягом 7 діб. Ложе зволожували дистильованою водою щоденно, не допускаючи перезволоження та підсихання.

Схема досліду включала три варіанти у шестикратній повторності. Насіння контрольованого варіанта пророщували на дистильованій воді. Для індукції сольового стресу насіння ячменю другого та третього варіантів пророщували на 0,1М розчині хлориду натрію з осмотичним тиском

0,5 МПа. Насіння третього варіанта пророщували на сольовому фоні, але попередньо його обробляли препаратом АКМ у рекомендованій виробництву концентрації (0,033 г/л). Обробку насіння препаратом проводили шляхом передпосівної інкрустації. Приготування препарату АКМ проводили відповідно до запатентованої методики [4].

У ході досліду в сухому насінні, ендоспермі та органах зародкової вісі (проросток та корені) визначали вміст ТБК-АП за модифікованою методикою Heath R.L., Parker L. [5], каталазну активність за Королюк М.А. та ін. [6], водорозчинну фракцію білка за Lowry O.H. [7]. Відбір проб проводили на 6, 12, 24 години та 3, 5, 7 добу з моменту початку проростання насіння. Протягом першої доби пророщування досліджували динаміку набубнявіння насіння з розрахунком вологості за ГОСТ 12041-82. На 3 добу визначали енергію проростання, на 7 –

лабораторну схожість насіння, довжину проростків та сиру масу проростків і коренів ячменю [8]. Результати опрацьовано статистично з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Протягом першої доби найбільшою швидкістю поглинання води характеризувався насіння контрольного варіанта (рис.1). Тоді як за пророщування насіння ячменю на сольовому фоні інтенсивність поглинання води була меншою на 26–33% порівняно з контрольним значенням. Динаміка набубнявіння насіння ячменю інкрустованого препаратом АМК була подібною до сольового фону і характеризувалася лише невірогідно підвищеними значеннями водопоглинання протягом досліджуваного періоду.

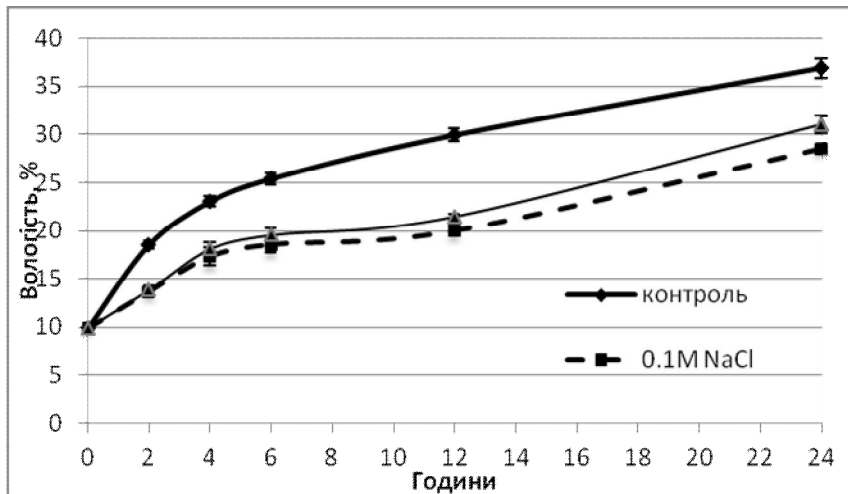


Рис. 1. Зміна вологості насіння ячменю за умов сольового стресу та при дії препарату АМК.

Відомо, що поглинання води є пусковим фактором для проростання насіння. За наявності натрію хлориду в середовищі проростання зниження водного потенціалу уповільнює фізіологічні процеси гідролізу запасних речовин, ферментативної активності, що в кінцевому рахунку гальмує діяльність зародкової вісі. Базуючись на осмотоксичній теорії ушкоджуючої дії солей на рослини доведено інгібування мітотичної активності злакових культур, що призводить до затримки процесів проростання насіння. Накопичення іонів Na^+ та Cl^- в зародку насіння, що проростає, призводить до зниження інтенсивності анаболічних процесів, накопичення продуктів гідролізу запасних речовин ендосперму, погіршення їх транспортування до зародку та вважається основною причиною різкого гальмування ростових процесів. Це підтверджують результати визначення енергії проростання та лабораторної схожості насіння ячменю в умовах засолення (табл. 1).

Таблиця 1 – Енергія проростання, лабораторна схожість насіння, сира маса та довжина проростків і коренів ячменю за дії сольового стресу, ($X \pm m$, $n=6$)

Варіант	Енергія проростання, %	Лабораторна схожість, %	Сира маса 100 шт, г		Довжина проростків, см
			проростки	корені	
1 (контроль)	80,3±1,3	84,9±3,9	9,21±0,34	6,43±0,85	12,64±0,39
2 0.1M NaCl	38,2±0,8*	68,7±0,7*	5,85±0,34*	3,12±0,29*	7,41±0,41*
3 0.1M NaCl+ АМК	53,9±2,0*^	78,0±2,1*^	7,45±0,49*^	3,81±0,17*	9,17±0,48*^

Примітка. Тут і далі:

* – різниця істотна порівняно з контрольним варіантом при $p \leq 0,05$;

^ – різниця істотна порівняно з другим варіантом при $p \leq 0,05$.

Енергія проростання та лабораторна схожість насіння ячменю за його культивування в умовах натрій-хлоридного засолення значно знижуються. Передпосівна обробка насіння препаратом АКМ призвела до збільшення досліджуваних показників за дії сольового стресу. Так, енергія проростання та лабораторна схожість насіння ячменю інкрустованого препаратом АКМ були

вище на 41,1 та 13,5% ($p < 0,05$) відповідно порівняно зі значеннями отриманими від насіння пророщеного на сольовому фоні.

Суттєве зниження ($p < 0,05$) показників маси проростків та коренів ячменю спостерігали за умов сольового стресу, про що свідчить різке зменшення сирової маси проростків та коренів на 36,5 і 51,5% відповідно. Причиною різкого гальмування ростових процесів дослідники вважають накопичення продуктів гідролізу запасних речовин ендосперму, нагромадження води разом із погіршенням їх транспортування до зародку [1,2]. Результати визначення сирової маси проростків та коренів ячменю (табл. 1), вказують на позитивний вплив препарату АКМ під час пророщування насіння на сольовому фоні. Зафіксовано вірогідне ($p < 0,05$) зростання сирової маси 7-денних проростків ячменю на 27,4 % за дії АКМ в концентрації 0,03 г/л порівняно з другим варіантом. За дії досліджуваного препарату відбувалося зростання сирової маси коренів ячменю на 22,1% порівняно з коренями отриманими за пророщування в умовах хлоридного засолення.

Довжина 7-денних проростків ячменю за пророщування насіння на 0,1М розчині хлориду натрію була меншою в 1,7 рази за контрольний показник. Встановлено, що довжина проростків ячменю зростала за умов передпосівної обробки насіння препаратом АКМ в 1,24 рази ($p < 0,05$).

Засолення, особливо хлоридного типу, зумовлює у рослин порушення пігментного синтезу, роз'єднання процесів окисного фосфорилування й біологічного окислення, накопичення АФК, пероксидів і прояв окисного стресу [9]. Онтогенетичні особливості змін інтенсивності процесів пероксидації мають складний характер і залежать від багатьох факторів: субстратної забезпеченості, якісного складу субстратів, умов проростання і т.д. Водночас слід відмітити, що протягом першої доби пророщення насіння в умовах сольового стресу ендосперм характеризувався підвищенням до 2 разів вмістом продуктів пероксидації ліпідів (МДА). Подібна тенденція зберігається і в подальшому, але інтенсифікація пероксидації в органах зародкової вісі ячменю при засоленні проявляється меншою мірою.

За ступенем накопичення МДА можна казати про стійкість рослини до зовнішніх стресів. Препарат АКМ містить у своєму складі потужний антиоксидант іюнол та диметилсульфуроксид. Встановлено, що препарат АКМ за обробки ним насіння ячменю підвищував резистентність тканин проростаючого насіння до сольового стресу. Так, вміст ТБК-АП в 3-7-денних проростках 3-го варіанта був на 7,3–17,2% ($p < 0,05$) нижчим порівняно з проростками отриманими на сольовому середовищі. Корені ячменю інкрустованого препаратом АКМ мали на 19,8–22,8% ($p < 0,05$) меншу концентрацію ТБК-АП в умовах засолення порівняно з необробленим насінням.

Таблиця 2 – Вміст ТБК-АП в проростаючому насінні, проростках та коренях ячменю за умов сольового стресу та за дії препарату АКМ (мкМ/г, $X \pm m$)

Час		Варіант		
		1	2	3
Суше насіння		2,35±0,32		
6 год	ендосперм	2,36±0,15	2,69±0,19	2,24±0,19
12 год	ендосперм	4,13±0,18	5,34±0,40*	4,96±0,14
24 год	ендосперм	1,08±0,11	2,24±0,08*	1,73±0,17*
3 доба	ендосперм	0,94±0,02	1,33±0,10*	0,85±0,04
	зародкова вісь	13,69±0,17	15,06±0,11*	15,79±0,13*
5 доба	ендосперм	7,91±0,11	6,76±0,38	5,27±0,23*
	проросток	15,62±0,61	14,88±0,09	13,80±0,30*
	корені	12,47±0,15	13,02±0,22	10,44±0,42* [^]
7 доба	ендосперм	9,28±0,45	5,26±0,26*	3,91±0,12* [^]
	проросток	12,32±0,30	14,53±0,11*	12,02±0,10 [^]
	корені	8,67±0,18	9,09±0,21	7,02±0,10* [^]

Під час проростання насіння спостерігається активація каталазної активності в ендоспермі насіння ячменю (табл. 3). Протягом першої доби умови сольового стресу не впливають суттєво на КАТ активність. В подальшому відмічено вірогідне зниження КАТ активності в проростках та

зростання в коренях на фоні засолення. З огляду на більшу чутливість кореневої системи до засолення, активація КАТ є специфічною відповіддю ферментативної ланки антиоксидантної системи рослинного організму на стрес. Використання препарату АКМ дещо модулює КАТ активність. Так, у 5-7-денних коренях ячменю обробленого АКМ, КАТ активність знижується на 5,9–29,2% порівняно з коренями ячменю сольового фону.

Таблиця 3 – Каталазна активність в проростаючому насінні, проростках та коренях ячменю за умов сольового стресу та за дії препарату АКМ (мккат/мг білка, $X \pm m$)

Час		Варіант		
		1	2	3
Суше насіння		29,4±4,2		
6 год	ендосперм	35,8±6,9	37,4±4,8	33,8±5,8
12 год	ендосперм	80,1±7,4	78,7±4,4	85,6±7,4
24 год	ендосперм	122,3±9,5	110,5±5,4	148,4±10,2
3 доба	ендосперм	111,0±9,2	98,7±11,4	172,9±2,8 [^]
	зародкова вісь	204,2±13,1	108,2±5,7*	190,3±9,2 [^]
5 доба	ендосперм	192,6±6,6	205,2±2,8	233,3±5,0*
	проросток	621,8±6,5	520,6±9,5*	645,0±5,1 [^]
	корені	105,5±6,8	185,7±4,7*	174,01±2,4*
7 доба	ендосперм	96,3±6,2	171,1±5,2*	115,5±4,5 [^]
	проросток	502,3±2,5	442,0±8,9*	480,9±6,0*
	корені	60,91±1,7	114,0±12,0*	80,7±6,8

Тоді як у 5-7-денних проростках насіння ячменю обробленого препаратом АКМ активність каталази зростала на 8,6–24,0%. Зростання КАТ активності ймовірно дозволяє втримувати низький рівень процесів пероксидації в проростаючому насінні за умов сольового стресу.

Висновки. Наведені результати показують, що передпосівна обробка насіння ячменю антиоксидантною композицією АКМ сприяє уповільненню процесів пероксидації в тканинах проростаючого насіння за рахунок активації каталази та підвищує стійкість ячменю до сольового стресу, що виражається в підвищенні показників схожості насіння, інтенсифікації ростових процесів в початковий етап проростання насіння ячменю.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Xiong L. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress / L. Xiong, J.-K. Zhu // Plant, Cell and Environment. – 2002. – V. 25. – P. 131–139.
2. Hasegawa P.M. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity / P.M. Hasegawa, R.A. Bressan, J.-K. Zhu, H.J. Bohnert // Plant Physiol. – 2000. – V. 51. – P. 463–499.
3. Покопцева Л.А. Вплив антиоксиданту дистиол на формування насіння соняшнику в умовах півдня України / Л.А. Покопцева, В.В. Калитка // Збірник праць Луганського нац. агр. ун-ту. – 2006. – №57(80). – С. 73-78.
4. Пат. № 10460, Україна. Антиоксидантна композиція «АОК-М» для передпосівної обробки насіння сільськогосподарських культур / О.М.Заславський, В.В.Калитка, Т.О.Малахова; - 6 А 01 С 1/06; опубл. 15.08.2005, Бюл. №8.
5. Heath RL. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation / RL. Heath, L. Packer // Archives in Biochemistry and Biophysics. – 1968. – V.125. – P.189–198.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, А.И. Иванова, И.Т. Майорова // Лаб. дело.– 1988.– №1. – С.16-19.
7. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosenbrough, A.R. Farr // J.Biol.Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265-275.
8. Семена сельскохозйственных культур. Методы определения всхожести: ГОСТ 12038-84. Введ. 01.07.86. – М., 1984. – 30 с.
9. Шарипова Г. В. Особенности роста и водного обмена растений пшеницы и ячменя с различной солеустойчивостью при натрий-хлоридном засолении: автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. биол. наук: спец. 03.01.05 «Физиология и биохимия растений» / Г.В. Шарипова. – Уфа, 2007. – 23 с.

Влияние антиоксидантной композиции на процессы пероксидации и рост ячменя при засолении

М.А. Колесников

Показано, что препарат АКМ при предпосевной обработке семян ячменя способствует повышению всхожести, увеличивает массу и длину проростков, снижает содержание ТБК-АП, активизирует деятельность каталазы в эндосперме и органах зародышевой оси ячменя на ранних этапах прорастания.

Ключевые слова: антиоксидант, пероксидация, каталазная активность, морфометрические показатели, ячмень.

Effect of antioxidant composition on peroxidation processes and on growth of barley under salinity

M. Kolesnykov

It is shown that the AKM in barley seeds preseeded process promotes germination, increases the length and the weight of seedlings, reduces the amount of TBA-AP, activates the catalase function in the endosperme and embryonic axis organs of barley in the early stages of sprouting.

Key words: antioxidant, peroxidation, catalase activity, morphometric parameters, barley.