

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА БИОГУМУСА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Е. И. Юшкова<sup>1</sup>, Н. Е. Павловская<sup>2</sup>, Н. И. Ботуз<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Орловский государственный университет

<sup>2</sup> Орловский государственный аграрный университет

Поступила в редакцию 05.04.2010 г.

**Аннотация.** Биоактивные препараты получали из вермикомпоста — продукта жизнедеятельности дождевых червей Владимирский гибрид «Старатель». Биологически активные вещества вермикомпоста выделяли методом экстракции. Испытание биологической активности препаратов, проводили на антиоксидантной системе гороха. Активность ферментов исследовали в проростках: на 3-й день после замачивания семян; 5-и дневных и 15-и дневных. Исследования показали увеличение активности пероксидазы в обработанных препаратами на основе биогумуса в растениях, что свидетельствует о повышении иммунного статуса. Препараты проявляют высокую активность в низких концентрациях, что экономически выгодно при их дальнейшем применении.

**Ключевые слова:** иммунная система растений, индуцирование иммунитета, ферменты, каталаза, пероксидаза, биогумус, гуминовые препараты.

**Abstract.** Biochemic preparations were obtained from vermiculose — the product of earth worms Vladimir hybrid “Staratel” vital activity. Biologically active substances of vermiculose were obtained by extraction method. The testing of biological activity preparations was carried out on antioxidant pea system. Enzyme activity was studied in growing seeds on the 3-d day, on the 5-th day and on the 15-th day after retting seeds. Studies showed the increase of peroxidase activity in plants treated with biohumus preparations which proves the increase of immune status. Preparations demonstrate high activity at low concentrations which is economically profitable in its further usage.

**Keywords:** plant immune system, immunity induction, enzymes, catalase, peroxidase, biohumus, humine preparations.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время сельскохозяйственные растения постоянно находятся в условиях экологического стресса, поскольку страдают от болезней и вредителей, бесконтрольного применения пестицидов, переизбытка или недостатка удобрений. В таком состоянии растения не могут не быть иммунодефицитными. Никакие пестициды не могут заменить иммунную систему, а в ряде случаев способны ее подавить. Таким образом, химическое и инфекционное давление на растения часто превышает порог их возможной адаптации. Неудивительно, что иммунная система, которая защищает растения от болезней и стрессов, в настоящий момент сама нуждается в защите. Поэтому сейчас особенно важна разработка различных средств фитоиммунокоррекции, с тем, чтобы эффективно контролировать иммунный статус растения для преодоления его дефицитности [1].

Одним из наиболее многообещающих способов защиты растений является индуцирование их

устойчивости. Этот способ основан не на прямом подавлении патогенов, а на индуцировании естественного потенциала растительной ткани по тому образцу, как это происходит в природе. Это особенно актуально при возделывании неустойчивых и среднеустойчивых сортов, индуцирование устойчивости у которых к вредителям и болезням имеет решающее значение с экономической и экологической точек зрения [2].

Важную роль в формировании иммунитета у растений играют такие ферменты, как каталаза, пероксидаза и супероксиддисмутаза, которые в целом составляют антиоксидантную систему растений [3, 4]. Разумеется, в сложных саморегулирующихся системах, каковыми являются растения, имеется громадное количество биополимеров, надмолекулярных структур и образований, выживаемость организма ни в коей мере не определяется одними пероксидазами и каталазой, однако последние могут нести достаточную информацию о физиологическом состоянии растений и служить в качестве метки в иммуноферментном анализе.

Литературные данные свидетельствуют о широком спектре действия биогумуса и препаратов на его основе, в том числе их участие в защитных механизмах растений, иммуностимулирующем и координирующем действии на рост и развитие растений [5, 6, 1]. Изучение механизмов формирования защитных и ростостимулирующих свойств у растений под действием биогумуса, а также жидких гуминовых препаратов, позволит пролить свет на механизмы возникновения устойчивости, а также изучить проблему научного обоснования практического использования вермикомпоста как удобрения и биостимулятора.

Повышенная биологическая активность биогумуса объясняется тем, что копролиты являются центрами микробиологической активности в почве. В каждом грамме биогумуса содержится более 50 млрд. микробных клеток [7]. Поглощая почву и органические вещества, черви выделяют с копролитами большое количество собственной кишечной микрофлоры, ферментов, витаминов, которые в свою очередь обладают стимулирующим действием на активность и биомассу микроорганизмов, являющихся продуцентами различных биологически активных веществ [8]. Компоненты биогумуса, как показали исследования ряда авторов, имитируют действие природных фитогормонов, обладая ростостимулирующими, регуляторными, фунгистатическими свойствами.

#### **МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА**

Испытание биологически активных веществ полученных из биогумуса, проводили на антиоксидантной системе гороха. Основой для получения биоактивных препаратов стал вермикомпост — продукт жизнедеятельности элитной промышленной линии дождевых червей Владимирский гибрид «Старатель» (80 %), выдержанный в течение 6 месяцев, с добавлением клетчатки (15 %) и извести (5 %). Влажность составляла 70—80 % от общей влагоемкости; рН=6,8—7,2; температура поддерживалась около 18—23 °С.

Биологически активные вещества вермикомпоста выделяли методом экстракции.

Изучение влияния препаратов на основе биогумуса на активность пероксидазы и каталазы на начальных стадиях развития гороха проводили на контрастных по устойчивости сортах: сорт «Норд», не устойчивый к вредителям и болезням и сорт «Орпела», обладающим комплексной устойчивостью к неблагоприятным факторам. Активность ферментов исследовали в проростках: на 3-й день

после замачивания семян; 5-и дневных и 15-и дневных.

Активность каталазы изучали методом А. Ш. Галстяна с модификациями [9], пероксидазную активность — калориметрическим методом А. Н. Бояркина с модификациями [10]. Активность ферментов определяли в трех повторностях.

#### **ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Динамика оксидазной активности явление неспецифическое, но характерно отражает все процессы, связанные с накоплением активных форм кислорода, процессами устойчивости растений к неблагоприятным факторам.

Исследование пероксидазной активности в 3-х дневных проростках гороха сорта «Норд» показало, что в контроле (вода) активность фермента самая низкая (рис. 1). В образцах, обработанных препаратом Гумистар и раствором активного вещества биогумуса с концентрацией  $1,5 \times 10^{-4}$  %, активность пероксидазы повышается до 245 и 216,46 у.е. соответственно. В образцах, обработанных вытяжкой из компоста, активность увеличилась незначительно по сравнению с контрольным вариантом.

Активность пероксидазы в 3-х дневных проростках у сорта «Орпела» различается по вариантам незначительно. Более высокая активность наблюдается в варианте с Гумистаром (рис. 1). Тенденция по закономерностям аналогична сорту «Норд».

Активность каталазы в проростках у неустойчивого сорта «Норд» по вариантам изменялась от 0,81 до 2,1 единиц. У сорта «Орпела» наиболее низкая активность фермента выявлена в контроле (7,3 у.е.); высокая — в вариантах с вытяжкой из компоста (10,5 у.е.). Активность образцов, обработанных растворами препаратов биогумуса и Гумистара, различалась незначительно (рис. 2).

Таким образом, в 3-х дневных проростках гороха сорта «Норд» активность пероксидазы во всех вариантах в несколько раз выше, чем у сорта «Орпела». А активность каталазы, напротив, во всех вариантах ниже. Снижение активности каталазы, возможно, связано с накоплением активных форм кислорода в форме перекисей и конкурентным действием пероксидазы, активность которой возросла.

Отмечено, что в корешках 3-х дневных проростков активность пероксидазы всех образцов выше, чем в семядолях. Причем в контрольном варианте эти показатели самые низкие и активность повышается в следующей последовательности:

контроль — проростки, обработанные вытяжкой из компоста, — проростки, обработанные препаратом биогумуса.

В 5-ти суточных проростках прослеживается та же закономерность: у устойчивого сорта «Орпела» активность пероксидазы в несколько раз ниже, чем у неустойчивого сорта «Норд» (рис. 3).

Активность каталазы в корешках проростков неустойчивого сорта «Норд» по вариантам иссле-

дования изменялась от 2 до 3,62 у.е. У сорта «Орпела» активность фермента во всех вариантах выше, чем у сорта «Норд» (рис. 4).

В 15-суточных проростках сорта «Норд» активность пероксидазы оказалась низкой в контроле и в варианте с вытяжкой из компоста (рис. 5). При обработке семян растворами препаратов биогумуса отмечено значительное возрастание активности пероксидазы до 2423 ед. для концентрации

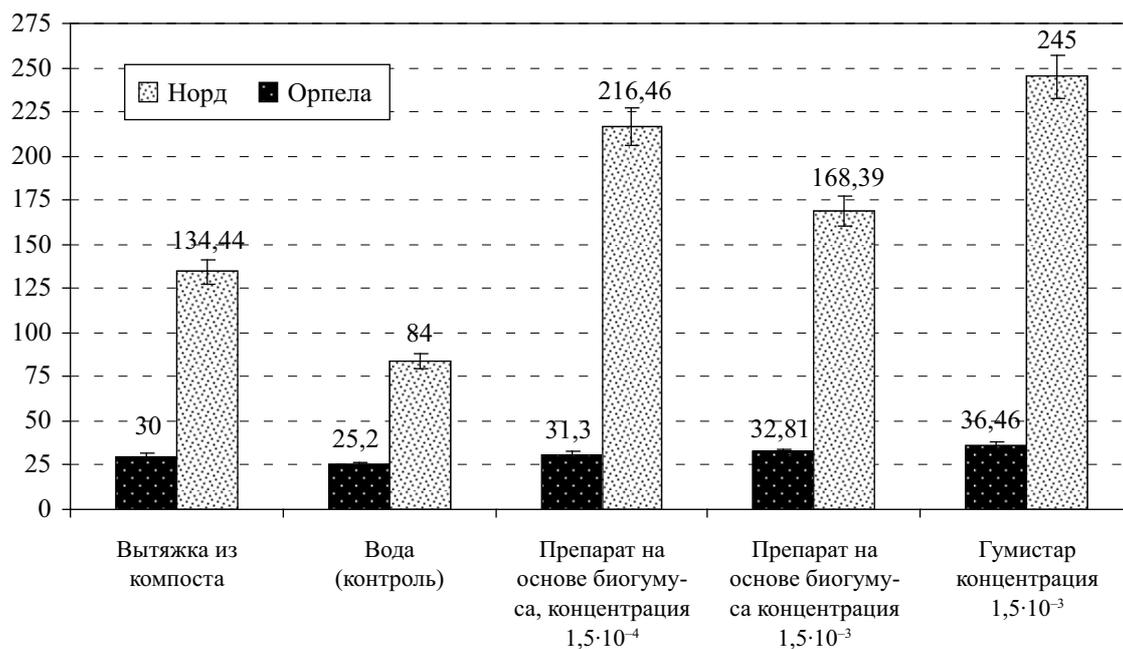


Рис. 1. Активность пероксидазы в проростках (3-й день)

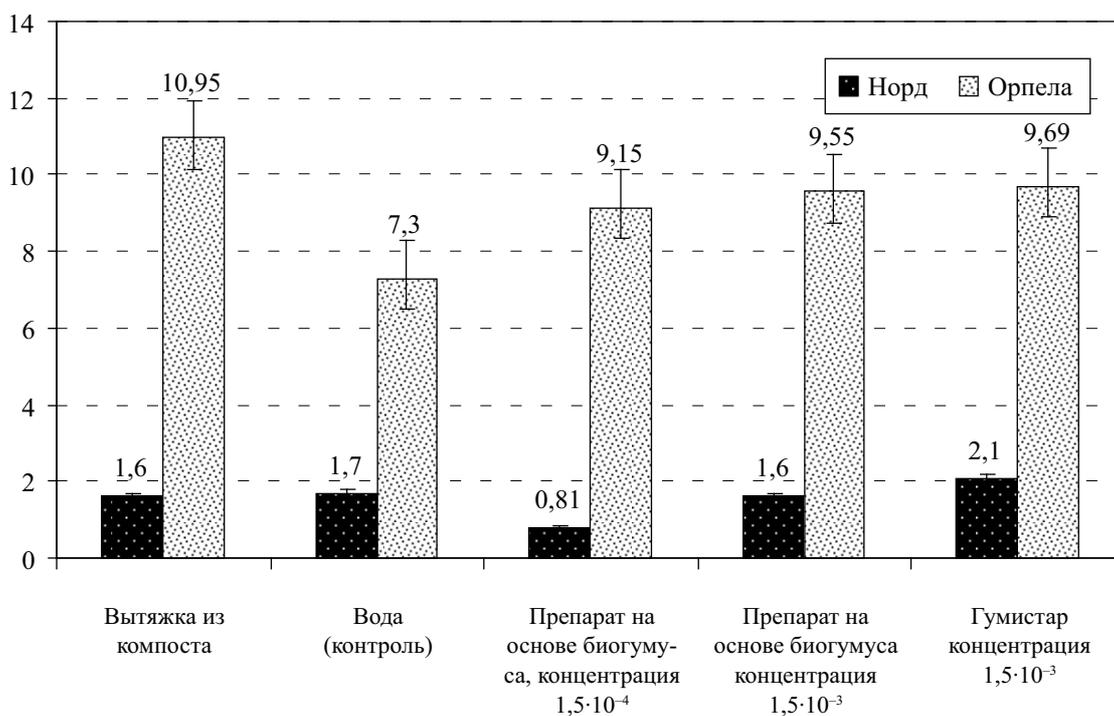


Рис. 2. Активность каталазы в проростках (3-й день)

$1,5 \cdot 10^{-4}$  %. В варианте с препаратом Гумистар активность фермента упала в сравнении с препаратом биогумуса. У сорта «Орпела» наблюдается та же закономерность (рис. 5).

Активность каталазы в проростках сорта «Норд» по вариантам изменялась незначительно. Низкая активность отмечена в вариантах с вытяжкой из компоста, препаратом биогумуса с концентрацией активного вещества  $1,5 \cdot 10^{-4}$  % и варианте с Гумистаром. Максимальная активность каталазы наблюдается при обработке проростков препаратом биогумуса с концентрацией активного вещества

$1,5 \cdot 10^{-3}$  %. У сорта «Орпела» активность фермента по вариантам изменялась незначительно. Выявлено, что в вариантах с вытяжкой из компоста, препаратом биогумуса (концентрация  $1,5 \cdot 10^{-4}$  %) и Гумистаром активность выше, чем у сорта «Норд». Просматривается закономерность, наблюдаемая при исследовании активности ферментов в семядолях и корешках (рис. 6).

При исследовании активности каталазы наблюдается обратная картина: у устойчивого сорта гороха активность фермента выше, чем у не устойчивого. Снижение активности каталазы можно

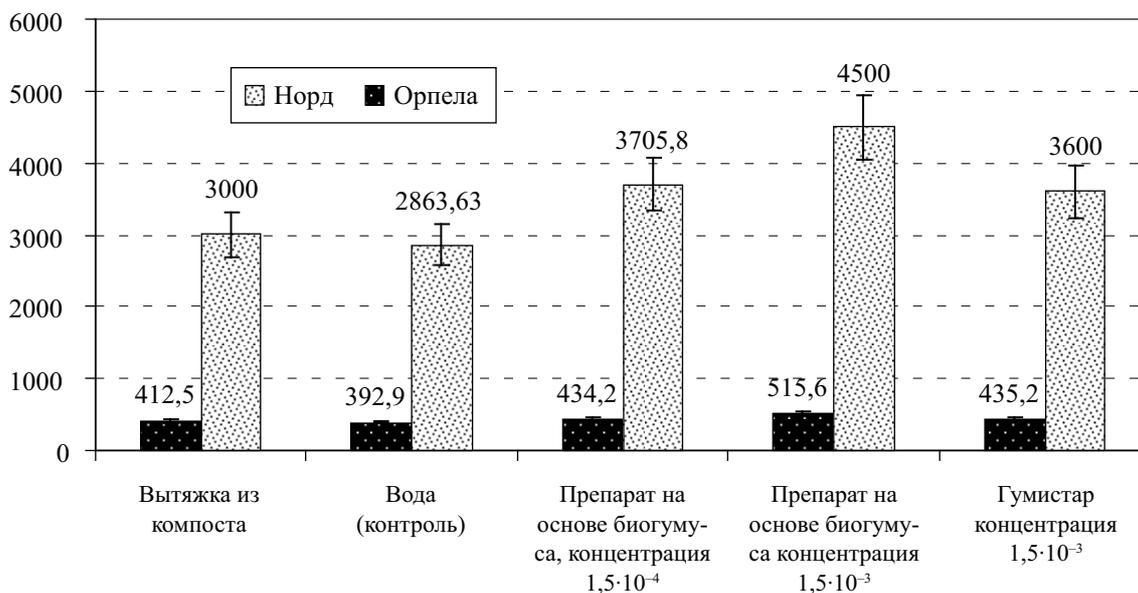


Рис. 3. Активность пероксидазы проростков (5-й день)

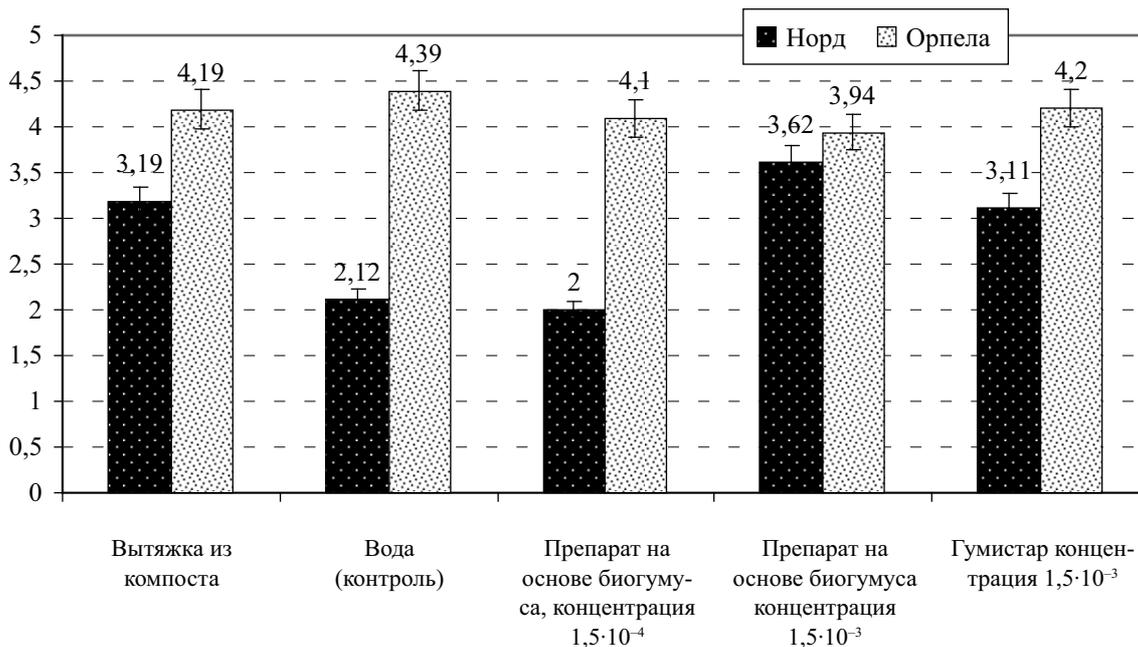


Рис. 4. Активность каталазы проростков (5-й день)

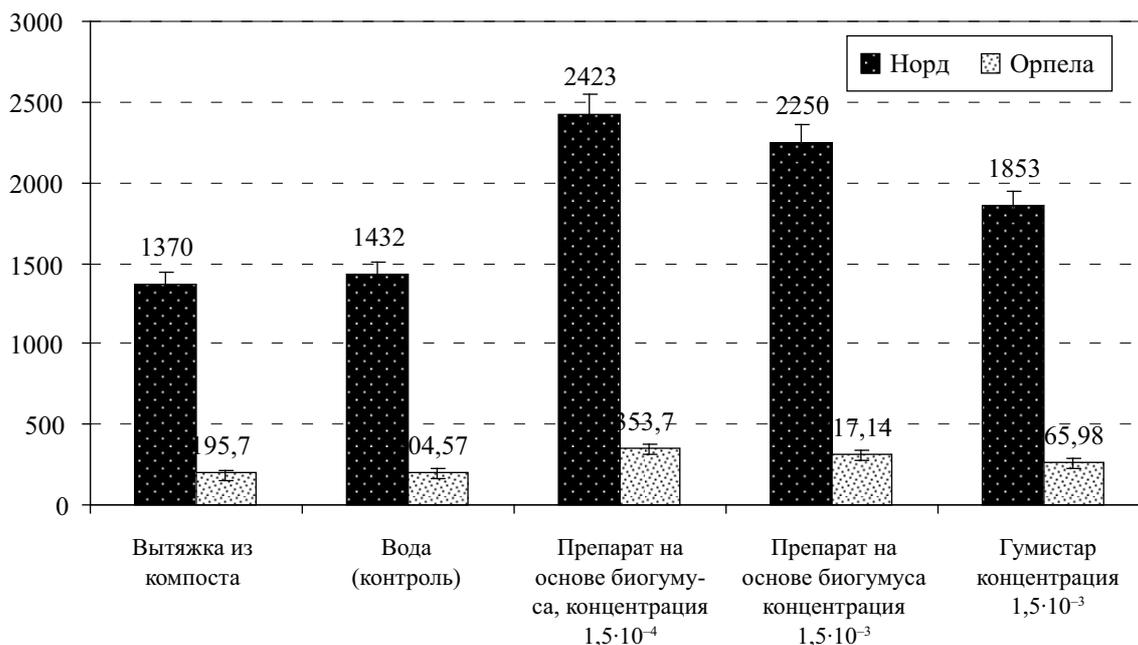


Рис. 5. Активность пероксидазы проростков (15-й день)

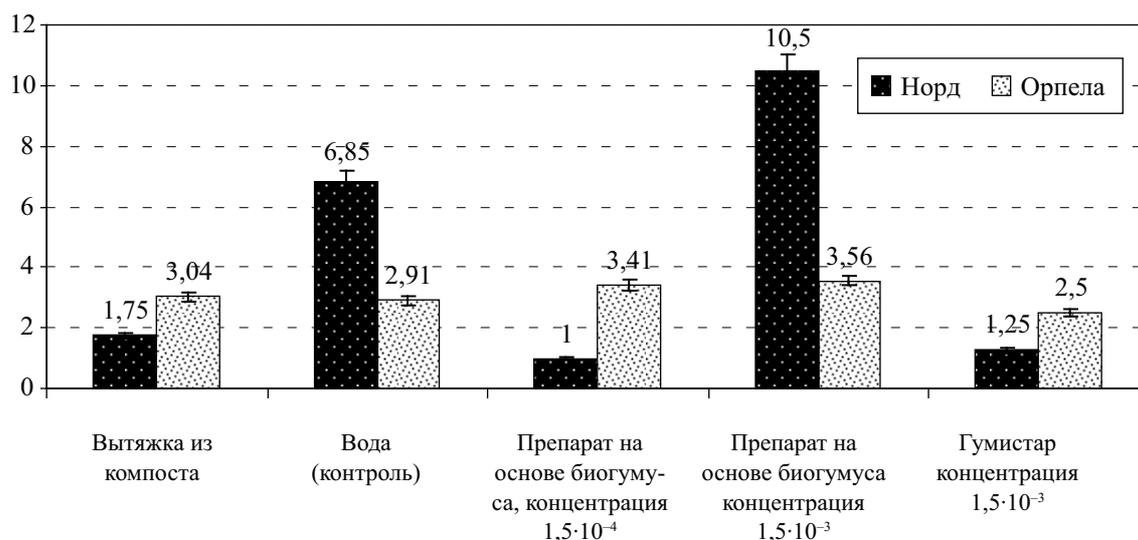


Рис. 6. Активность каталазы проростков (15-й день)

объяснить конкурентным действием пероксидазы, активность которой возросла. Это подтверждает закономерность: изменение каталазной активности на этапах онтогенеза обратно пропорционально пероксидазной активности.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные результаты, можно сделать следующие выводы.

При обработке растений препаратами на основе биогумуса удается индуцировать иммунитет у растений, поскольку обработка семян вызывает биохимические изменения в тканях.

В обработанных препаратами на основе биогумуса растениях активность пероксидазы увеличивается, а поскольку возрастание пероксидазной активности свидетельствует о повышении иммунного статуса, можно предположить, что биогумус выступает элиситором индуцированного иммунитета. Это подтверждают литературные данные: при применении гуминовых веществ показано увеличение активности каталазы, пероксидазы, дифенолоксидазы и инвертазы [11].

Обработка препаратами на основе биогумуса сохраняет уровень пероксидазы в проростках на достаточно высоком уровне, что позволяет расте-

нию защититься от болезней на этапе развития, когда иммунитет понижен. Пероксидазосомы растительных клеток играют фундаментальную роль в защите от патогенов [12]. Усиление их функции с помощью биогумуса может явиться новой формой биологической защиты растений.

Концентрация растворов не оказала особой роли, наличие активного компонента поддерживало гомеостаз и активность фермента. Следовательно, можно использовать низкие дозы препаратов, что экономически выгодно при дальнейшем его применении.

Результаты сравнения активности ферментов после обработки препаратами биогумуса сортов «Норд» и «Орпела», свидетельствуют о том, что устойчивый сорт «Орпела», обладающий своей сильной системой защиты, имеет низкую активность пероксидазы. У неустойчивого сорта «Норд» активность пероксидазы в семядолях, корешках и проростках повышается во всех вариантах в значительной степени в сравнении с сортом «Орпела».

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Озерецковская О. Л.* Индуирование устойчивости растений // *Аграрная Россия*. 1999. №1 (2). С. 4—9.
2. *Ковалев В. М., Янина М. М.* Методологические принципы и способы применения ростостимулирующих препаратов нового поколения в растениеводстве // *Аграрная Россия*. №1 (2). С. 9—12.
3. *Дмитриев А. П.* Сигнальные молекулы растений для активизации защитных реакций в ответ на биоло-

гический стресс. // *Физиология растений*. 2003. Т. 50. №3. С.465—474.

4. *Дьякон Ю. Т., Багирова С. Ф.* Что общего в иммунитете растений и животных? // *Природа*. 2001. №11. С. 1—10.

5. *Алтунин Д. А., Титов И. Н., Шишова Т. И., Трофимов Д. В.* Применение гуминового препарата «Гумисол» под различные культуры // *Достижения науки и техники АПК*. 2000. №7. С. 9—12.

6. *Ищенко А. В.* Фульвокислоты: свойства и биологическая активность // *Материалы 2-ой Международной научно-практической конференции. «Дождевые черви и плодородие почв»*. Владимир, 17—19 марта, 2004 г. С. 264—265.

7. *Игонин А. М., Титов И. Н.* Переработка органических отходов с помощью новой промышленной линии дождевых (компостных) червей «Владимирский гибрид» (Старатель) // *Материалы 1-й Международной науч.-практ. конф. «Дождевые черви и плодородие почв»*. Владимир, 2002. С.7—8.

8. *Тереженко Н. Н., Бубина А. Б.* К вопросу о природе ростстимулирующих и фунгистатических свойств вермикомпоста // *Материалы 2-й Международной науч.-практ. конф. «Дождевые черви и плодородие почв»*. Владимир, 17—19 марта, 2004 г. С. 144—149.

9. *Галстян А. Ш.* Унификация методов определения активности ферментов почвы // *Почвоведение*. 1978. №2. С. 107—114.

10. *Бояркин А. Н.* Биохимия. М.: Наука, 1981. 352 с.

11. *Тютерева С. Л.* Научные основы индуцирования болезнеустойчивости растений. СПб., 2002. 202 с.

12. *Роговин В. В., Муравьев Р. А., Акимов Б. С., Бавыкина И. В.* Пероксидазосомы растительных клеток // *Физиология растений*. 1987. Т. 34. №6. С. 1181—1185.

---

*Павловская Нинэль Ефимовна* — д.б.н., профессор, заведующая кафедрой биотехнологии, Орловский государственный аграрный университет; тел.: (462) 764079

*Pavlovskaya Ninel E.* — professor, head of the department of Biotechnology, Orel State Agriculture University; tel. (462) 764079

*Ботуз Наталья Ивановна* — к.с/х.н., руководитель лаборатории физиологии и биохимии растений, Орловский государственный аграрный университет; тел. (462) 764079

*Botuz Natalya I.* — cand. Agricul. Sci., the manager of laboratory of Physiology and Biochemistry of Plants, Orel State Agriculture University; tel.: (462) 764079

*Юшкова Елена Ильинична* — к.х.н., доц., доцент кафедры фармакологии и биологической химии, Орловский государственный университет; тел.: (462) 432181, e-mail: kin1@orel.ru

*Yushkova Elena I.* — cand. Chem. Sci., the senior lecturer faculty of Pharmacology and Biochemistry of Medical Institute, Orel State University; tel.: (462) 432181, e-mail: kin1@orel.ru