

УДК: 582.26:581.143:633.11

Экстракты морских водорослей как стимуляторы начальных этапов развития растений ячменя

Ф.П.Ткаченко, В.А.Топтиков

Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова (Одесса, Украина)

Исследовали биологическую активность водных экстрактов из некоторых водорослей. Определяли влияние экстрактов на всхожесть, длину и массу корней и побегов проростков ячменя. С помощью метода электрофореза анализировали изозимный спектр и активность сукцинатдегидрогеназы, пероксидазы и супероксиддисмутазы. Показано, что сила и направленность изменений активности ферментов и их изозимного спектра, вызываемых экстрактами, зависели от вида водорослей. Наибольший прирост биомассы и наиболее высокая активность исследуемых ферментов отмечены в проростках ячменя при воздействии экстракта из *Enteromorpha intestinalis* var. *intestinalis*.

Ключевые слова: биостимуляторы, морские водоросли, рост и развитие растений, сукцинатдегидрогеназа, пероксидаза, супероксиддисмутаза.

Введение

При выращивании многих сельскохозяйственных культур широко применяются различные стимуляторы роста. Одним из перспективных приемов стимулирования роста растений может быть предпосевная обработка семян суспензиями живых организмов (Кривицька та ін., 2004), а также экстрактами из макро- и микроводорослей (el-Sheekh, el-Saied, 2000; Шаларь и др., 2005). Ростостимулирующая активность экстрактов из некоторых видов водорослей-макрофитов известна относительно давно (Finnie, van Staden, 1985; Padun, Musatenko, 1992) и используется в практике сельского хозяйства (Сиренко, 2001). Биоактивными компонентами водорослей являются микроэлементы – компоненты ферментных систем (Сиренко, Козицкая, 1988), витамины (Саут, Уиттик, 1990), гормональные соединения (индолилуксусная кислота, зеатин, абсцизовая кислота, гиббереллин и цитокинины) (Padun, Musatenko, 1992; Мусатенко, 1999), фенольные протекторы, фенольные синергисты, имитаторы фитогормонов (Кефели, Сидоренко, 1991) и др. Природа, механизм и специфичность воздействия водорослевых препаратов на сельскохозяйственные растения окончательно не исследованы.

Целью данной работы было изучить влияние экстрактов, полученных из морских водорослей-макрофитов, на всхожесть, ростовые процессы и некоторые ферментные системы в проростках ячменя.

Материал и методы

Гомогенаты водорослей готовили растиранием сырой массы в фарфоровой чашке с помощью пестика и с добавлением кварцевого песка. Навеска водорослей – 5 г. Для получения экстракта гомогенат переносили в колбу путем смыва 100 мл дистиллированной воды. Суспензию энергично встряхивали, а затем фильтровали через складчатый бумажный фильтр. Экстракты получали из следующих видов макроводорослей: *Ceramium rubrum auctorum* Krauss (Rhodophyta); *Enteromorpha intestinalis* var. *intestinalis* (L.) Link., *Urospora penicilliformis* (Roth) Aresch. (Chlorophyta); *Punctaria latifolia* Grev. (Phaeophyta).

Для изучения ростовых процессов растения проращивали в чашках Петри. На дно чашек укладывали два слоя фильтровальной бумаги, доливали в каждую из них по 10 мл водорослевого экстракта и помещали туда по 20 семян ячменя сорта «Одесский 115». Контрольные растения проращивали с использованием чистой воды. Повторность опыта – трехкратная.

Энергию прорастания и всхожесть семян ячменя определяли по общепринятой методике (Проценко и др., 1973).

Ростовые процессы в проростках оценивали по изменению их длины, веса надземной и подземной частей (Ружицька, 2004).

Активность и изоферментный спектр сукцинатдегидрогеназы, пероксидазы и супероксиддисмутазы исследовали методом вертикального электрофореза в 10% полиакриламидном геле (Сафонов, Сафонова, 1971) на приборе ЕЛФ-2. Экстракцию ферментов проводили 0,1 М трисглициновым буфером (рН 8,3) с добавлением 10^{-4} М ЕДТА и поликапролактомового порошка (Левитес, 1986).

Полученные цифровые данные обрабатывали методами статистики (Шмидт, 1984).

Результаты исследований и их обсуждение

Наиболее высокие показатели энергии прорастания и всхожести семян ячменя наблюдались при предпосевной обработке водорослевыми экстрактами из *Punctaria latifolia*. Несколько меньше эта величина в контроле и в варианте с экстрактом из *Urospora penicilliformis*. В вариантах с использованием экстрактов *Ceramium rubrum auctorum* и *Enteromorpha intestinalis* происходило ингибирование прорастания семян (рис. 1).

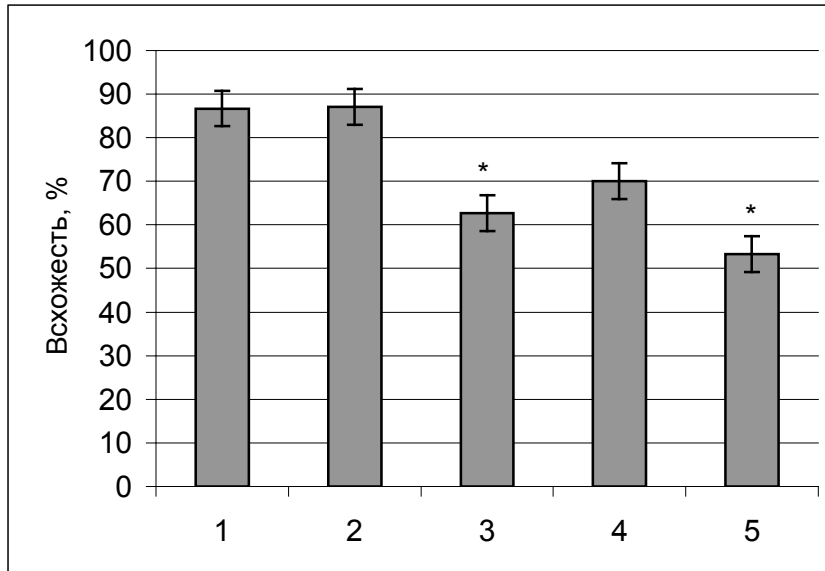


Рис. 1. Всхожесть семян ячменя в разных вариантах опыта

Примечание: (здесь и на рис. 2–7) 1 – контроль (дистиллированная вода); экстракты из: *Punctaria latifolia* – 2; *Ceramium rubrum auctorum* – 3; *Urospora penicilliformis* – 4; *Enteromorpha intestinalis* – 5. * – (здесь и на рис. 2, 3) по сравнению с контролем отличие достоверное ($P \leq 0,05$).

При измерении длины стебля и корней 7-дневных проростков ячменя установлено, что максимальной средняя длина стебля оказалась в варианте с использованием экстракта *P. latifolia* (рис. 2) и была равна 7,03 см. Близкими, но значительно более низкими, чем в предыдущем варианте, были длины надземной части проростков в вариантах с применением экстрактов *U. penicilliformis* и *E. intestinalis*, а также в контроле. Экстракт из *C. rubrum auctorum* ингибировал ростовые процессы в проростках ячменя.

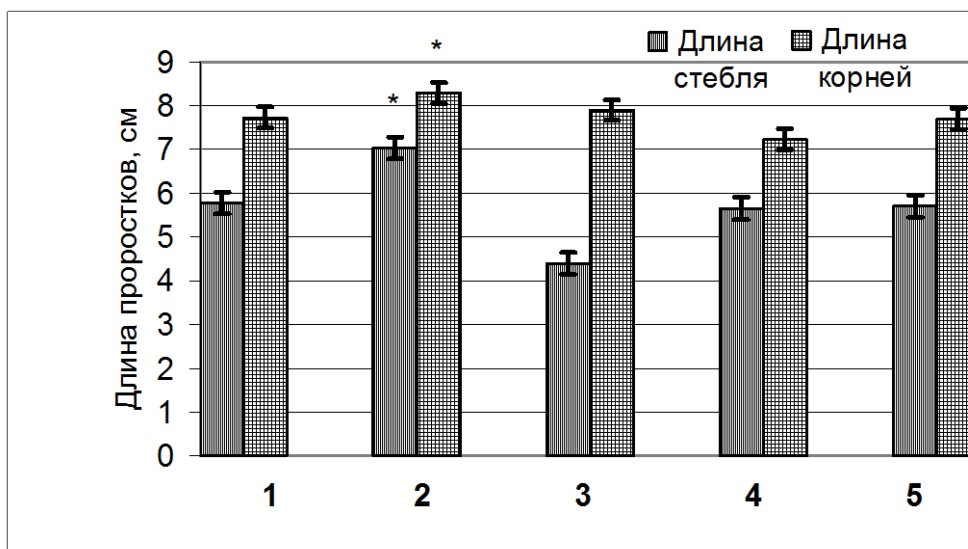


Рис. 2. Влияние водорослевых экстрактов на длину проростков ячменя

Длина корней в разных вариантах опыта варьировала в широких пределах (рис. 2). Максимальный их прирост наблюдался в опытах с использованием экстрактов из *P. latifolia* (8,3 см) и *S. rubrum auctorum* (7,9 см), а минимальный – в экстракте из *U. penicilliformis* (7,2 см).

Интегральным показателем, отражающим интенсивность физиологических процессов в клетках проростков ячменя, является их биомасса (рис. 3). Заметное стимулирующее действие на рост всего растения оказали экстракты из *E. intestinalis* и *P. latifolia*.

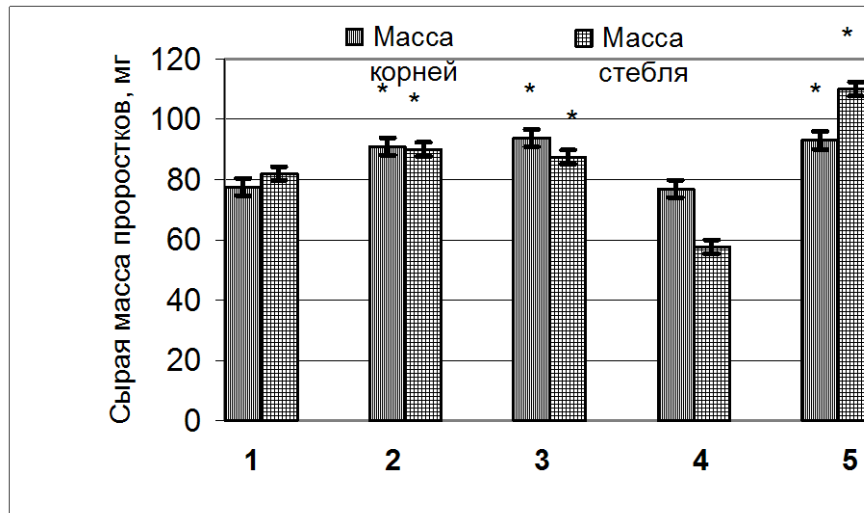


Рис. 3. Влияние водорослевых экстрактов на прирост биомассы проростков ячменя

Как известно (Лихолат, Дружинина, 1977), действие различных стимуляторов роста осуществляется через их влияние на обмен веществ растений. В клетках усиливается дыхательный газообмен и активность ряда ферментов, а также повышается интенсивность фотосинтеза. Изучали влияние водорослевых экстрактов на активность и спектр изоформ ферментов, отражающих общее состояние энергетического метаболизма (сукцинатдегидрогеназа) и защитные возможности растений (пероксидаза, супероксиддисмутаза).

Изоферментный спектр сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в проростках ячменя представлен тремя фракциями, при этом более высокая активность фермента отмечена в корнях (рис. 4).

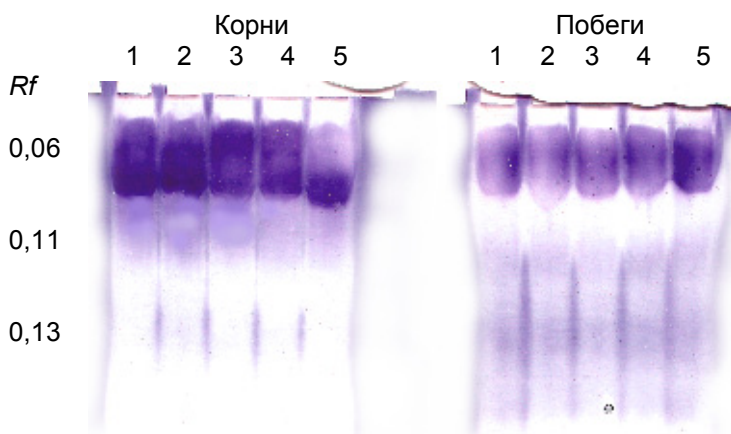


Рис. 4. Изоферментный спектр и активность сукцинатдегидрогеназы в проростках ячменя

Воздействие водорослевых экстрактов на электрофоретический спектр СДГ в корневой системе проростков проявилось главным образом в перераспределении активности между двумя мажорными фракциями с электрофоретической подвижностью (R_f) 0,06 и 0,11. В контроле (№1) ферментативная активность сосредоточена в более быстрой фракции с $R_f=0,11$. В варианте №2 (экстракт из *P. latifolia*) заметно повышалась активность в зоне с $R_f=0,06$ при сохранении высокой активности в более

быстрой мажорной фракции ($Rf=0,11$). В варианте №3 (*C. rubrum auctorum*) ферментативная активность существенно смещена в медленную зону ($Rf=0,06$). Другие экстракты оказали противоположное влияние на распределение изоформ в спектре СДГ проростков ячменя: ферментативная активность смещалась в более быструю зону. Наиболее заметные изменения наблюдались в варианте №5 (*E. intestinalis*). Здесь практически исчезла медленная фракция ($Rf=0,06$) и сукцинатдегидрогеназная активность сосредоточилась в быстрой мажорной фракции ($Rf=0,11$), которая слилась с минорной фракцией ($Rf=0,13$).

Исследуемые экстракты не влияли на распределение изоформ в спектре СДГ из побегов растений. Основным эффектом обработки проявлялся в усилении ферментативной активности, которое наблюдалось в вариантах №3, 4 и, особенно, после обработки экстрактом из *E. intestinalis* (рис. 4). Отмеченное повышение ферментативной активности свидетельствует об усилении энергетического метаболизма в побегах, что хорошо согласуется с наблюдаемым увеличением биомассы проростков, происходящим при действии экстрактов, получаемых из вышеуказанных водорослей.

В спектре пероксидаз (ПО) растений ячменя обнаружено до 12 фракций (рис. 5). В корнях спектр фермента оказался более разнообразным, чем в стебле. Наибольшая пероксидазная активность в экстрактах из побегов сосредоточена в электрофоретической фракции с $Rf=0,13$. Мажорная фракция спектра ПО в корневой системе проростков находилась в зоне с более высокой подвижностью с $Rf 0,37-0,40$. В корневой системе водорослевые экстракты не оказывали заметного влияния на активность отдельных фракций ПО и на их распределение в спектре. Действие всех экстрактов на побеги растений приводило к усилению изоформы ПО с подвижностью 0,07. Кроме этого, обработка экстрактами из *C. rubrum auctorum*, *U. penicilliformis* и, особенно, из *E. intestinalis* приводила к снижению интенсивности окрашивания в побегах мажорной фракции ПО с относительной электрофоретической подвижностью $Rf=0,13$ (активность других фракций ПО при этом существенно не изменялась) (рис. 5).

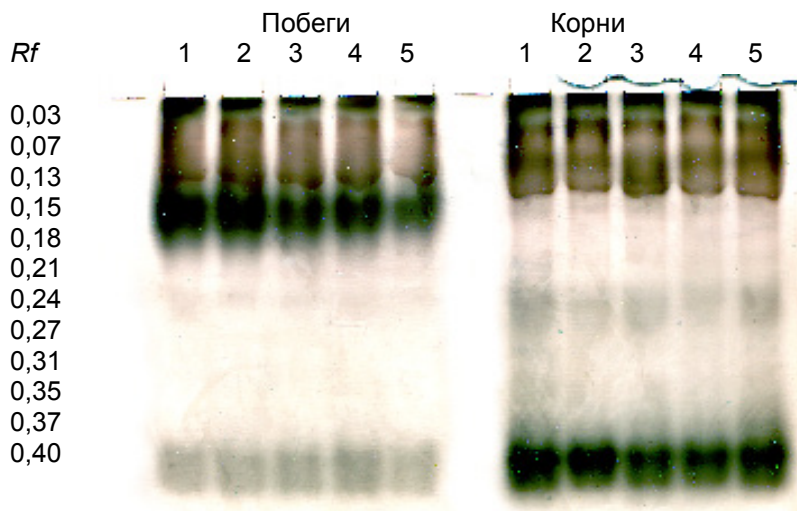


Рис. 5. Изоферментный спектр и активность пероксидазы в проростках ячменя

Всего в изоферментном спектре супероксиддисмутазы (СОД) выявлено 9 электрофоретических фракций. В корнях активность фермента была более высокой, а их спектр был более разнообразным. В побегах основная активность СОД сосредоточена в зоне с меньшей подвижностью (до 0,14–0,15). В корнях, наоборот, наиболее интенсивно окрашивается высокоподвижная область спектра ($Rf=0,40$). Значительная ферментативная активность выявляется также в зоне со средней электрофоретической подвижностью ($Rf=0,22-0,24$). Различные водорослевые экстракты вызывали неодинаковые изменения в интенсивности окрашивания полос в спектре СОД. Обработка растений экстрактом из *C. rubrum auctorum* (вар. №3) не приводила к изменению спектра фермента в корневой системе по сравнению с контролем. Под воздействием экстрактов из *P. latifolia* (вар. №2) и *U. penicilliformis* (вар. №4) в корнях снижалась активность в зонах средней и высокой подвижности ($Rf=0,22; 0,24; 0,31; 0,33$; в 4-ом варианте также и 0,40). В варианте №5 (*E. intestinalis*), напротив, интенсивность окрашивания вышеупомянутых областей спектра СОД в корнях существенно возрастала по сравнению с контролем. В надземной части проростков ячменя происходило понижение интенсивности окрашивания мажорной зоны ($Rf=0,14-0,15$) в вариантах №4 и 5. В вариантах №3 и 5 усиливалась активность самой быстрой фракции СОД ($Rf=0,46$) (рис. 6).

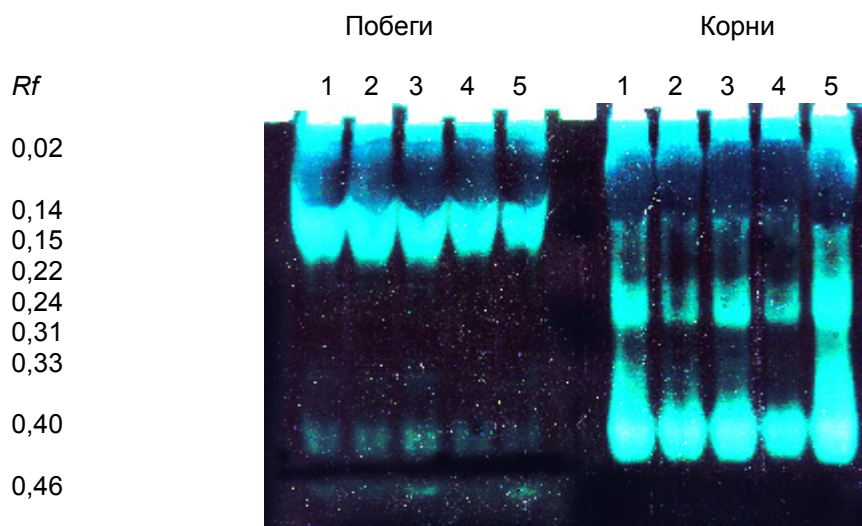


Рис. 6. Изоферментный спектр и активность супероксиддисмутазы в проростках ячменя

Таким образом, исследуемые экстракты оказывали влияние на начальные этапы развития растений ячменя, то есть обладали определенной биологической активностью. Сила и направление изменений, вызываемых экстрактами, зависели от вида водоросли, используемой в качестве источника препарата. Экстракты одних водорослей оказывали стимулирующее действие на ростовые процессы, других – ингибирующее или были нейтральными. При этом, один и тот же экстракт мог вызывать одновременно положительные изменения одних параметров при понижении значений других параметров роста растений. Действие экстрактов реализуется через изменения общего уровня и тонкой регуляции метаболизма, которые вызываются изменениями активности ферментов и их изозимного спектра.

Выводы

1. Среди испытанных водных водорослевых экстрактов стимулирующее влияние на всхожесть семян ячменя и ростовые процессы проявил экстракт из *Punctaria latifolia*.
2. Высокую ауксиноподобную активность в отношении корневой системы проростков ячменя проявили экстракты из *Ceramium rubrum auctororum* и *Punctaria latifolia*.
3. Все исследуемые водорослевые экстракты приводили к изменениям активности и изозимного спектра сукцинатдегидрогеназы, пероксидазы и супероксиддисмутазы.
4. Наибольший прирост биомассы и наиболее высокая активность исследуемых ферментов отмечены в проростках ячменя при воздействии экстракта из *Enteromorpha intestinalis* var. *intestinalis*.

Список литературы

- Кефели В. И., Сидоренко О. Д. Физиология растений с основами микробиологии. – М.: Агропромиздат, 1991. – 335с.
- Кривицька Т.М., Іваниця В.О., Кліменко А.М. Динаміка популяції бактерій *Cytophaga hutchinsoni* в системі ґрунт-рослина при різних рівнях внесення // Вісник аграрної науки Південного регіону. Сільськогосподарські та біологічні науки. – Одеса: СМІЛ, 2004. – Вип.5. – С. 174–179.
- Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. – Новосибирск: Наука, 1986. – 144с.
- Лихолат Т. В., Дружинина Т.Н. Влияние ауксина и гиббереллина на активность УДФГ-4-эпимеразы в колеоптилях пшеницы // Физиол. раст. – 1977. – Т.24, №6. – С. 1194–1199.
- Мусатенко Л.И. Рост и гормональный комплекс водорослей-макрофитов // Альгология. – 1999. – Т.9, №2. – С. 97–98.
- Проценко Д.Ф., Сиренко Л.А., Монастырецкая Е.В. Влияние водорослевой массы на всхожесть и прорастание семян овощных культур // Физиология и биохимия культурных растений. – 1973. – Т.5, вып.3. – С. 279–289.
- Ружицька О.М. Морфологічні показники та інтенсивність пероксидного окислення ліпідів у насіння пшениці за різних умов його зберігання // Вісник ОНУ. Біологія. – 2004. – Т.9, вип.5. – С. 67–77.
- Саут Р., Уитик А. Основы альгологии. – М.: Мир, 1990. – 597с.

- Сафонов В.И., Сафонова М.П. Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – 136с.
- Сиренко Л.А. Международный Симпозиум по микроводорослям и водорослевым продуктам в системе растение-почва (20–22 June, 2001. Mosonmagyaróvár, Hungary). Обзор // Альгология. – 2001. – Т.11, №4. – С. 519–522.
- Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. – Киев: Наук. думка, 1988. – 256с.
- Шаларь В.В., Шаларь В.М., Маня Ш. Применение синезеленых водорослей в качестве стимулятора роста культурных растений // Мат. III Междунар. конф. «Актуальные проблемы современной альгологии». – Харьков: ХНУ, 2005. – С. 179–180.
- Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1984. – 288с.
- el-Sheekh M.M., el-Saied A. el-D Effect of crude seaweed extracts on seed germination, seedling growth and some metabolic processes of *Vicia faba* L. // Cytobios. – 2000. – Vol.101. – P. 23–25.
- Finnie J. F., van Staden J. Effect of seaweed concentrate and applied hormones on in vitro cultured tomato roots // J. Plant Physiol. – 1985. – Vol.120. – P. 215–222.
- Padun A.A., Musatenko L.I. Biological activity phytohormones of algae // Algologia. – 1992. – Vol.2, №4. – P. 21–26.

Екстракти морських водоростей як стимулятори початкових етапів розвитку рослин ячменю

Ф.П.Ткаченко, В.А.Топтіков

Досліджували біологічну активність водних екстрактів із деяких видів морських водоростей. Визначали вплив екстрактів на схожість, довжину і масу коренів та пагонів паростків ячменю. За допомогою метода електрофорезу аналізували ізоферментний спектр і активність сукцинатдегідрогенази, пероксидази і супероксиддисмутази. Показано, що сила і направленість зміни активності ферментів та їх ізоферментного спектру, викликаних екстрактами, залежали від виду водоростей. Найбільший приріст біомаси і висока активність досліджуваних ферментів відмічені в проростках ячменю під дією екстракту із *Enteromorpha intestinalis* var. *intestinalis*.

Ключові слова: біостимулятори, морські водорості, ріст і розвиток рослин, сукцинатдегідрогеназа, пероксидаза, супероксиддисмутаза.

Extracts of seaweeds as stimulators of initial stages of barley plants development

F.P.Tkachenko, V.A.Topikov

The biological activity of water extracts of some species of seaweeds was studied. The influence of extracts on sprouting, length and mass of roots and shoots of barley seedlings was determined. Using method of electrophoresis the isozyme specter and activity of succinatdehydrogenase, peroxidase and superoxyddismutase were analyzed. It was shown, that strength and direction of changes of ferments activities and their isozyme specters, stimulated by extracts depended on species of seaweeds. The biggest accretion of biomass and higher activity of investigated ferments were detected in barley seedlings while using extracts from *Enteromorpha intestinalis* var. *intestinalis*.

Key words: biostimulators, seaweeds, growth and development of plants, succinatdehydrogenase, peroxidase and superoxyddismutase.

Представлено: П.С.Тихоновим

Рекомендовано до друку: Т.В.Догадіною