

УДК 577.161.3;633.3

КОЛЕСНИКОВ М.О., канд. с.-г. наук

Таврійський державний агротехнологічний університет

ВПЛИВ ТОКОФЕРОЛУ НА ПРОРОСТАННЯ ГОРОХУ (*Pisum sativum L.*) ТА ФОРМУВАННЯ ЙОГО БІОЛОГІЧНОЇ ВРОЖАЙНОСТІ

Наведено результати впливу екзогенного токоферолу на біометричні показники гороху та стан оксидативних процесів за проростання в умовах сольового стресу. Показано позитивний вплив ТФ в концентрації 0,1 г/л на формування листової поверхні рослин гороху та його біологічну врожайність.

Ключові слова: горох, токоферол, сольовий стрес, продуктивність.

Постановка проблеми. Сольове навантаження є одним з найвагоміших чинників, що лімітує врожайність сільськогосподарських культур під час їх вирощування в умовах південного Степу України. Низький ГТК провокує до активного використання систем штучного зрошення. На сьогодні землі, які зрошуються протягом багатьох років мінералізованими артезіанськими водами, вторинно осолонцьовані, засолені і потребують меліоративного покращення.

Відомо, що сольовий стрес призводить до порушення фізіолого-біохімічних функцій рослинного організму з активною генерацією продуктів вільнорадикального окиснення. Горох є слабосолестійкою культурою, тому його адаптація до умов підвищеного сольового фону є визначальною для формування біологічної продуктивності. На думку дослідників, одним з ефективних методів стимуляції адаптаційних механізмів рослин є використання адаптогенних препаратів антиоксидантного типу, які забезпечують підтримку іонного та оксидативного гомеостазу рослинного організму у разі засолення.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Токоферол (ТФ) вважається потужним природним антиоксидантом завдяки його здатності гальмувати процеси утворення активних кисневих метаболітів та переокиснення ліпідів, впливати на активність ферментативної антиоксидантної ланки [1]. В ряді робіт показано ефективність застосування токоферолу за вирощування квасолі, льону, пшениці, рису в умовах сольового стресу через його вплив на ріст рослин, формування генеративних органів та врожайність культур [2,3]. Таким чином, дослідження механізмів солестійкості за дії адаптогенних препаратів є актуальними та мають практичне значення.

Мета досліджень – з'ясувати особливості впливу екзогенного токоферолу на біометричні показники, стан оксидативних процесів за умов лабораторного сольового стресу під час проростання гороху та на формування його біологічної продуктивності.

Матеріал і методика дослідження. Для проведення досліджень використовували насіння гороху (*Pisum sativum L.*) сорту Готівський (F₁). Насіння гороху контрольного варіанта замочували протягом 6 год у дистильованій воді, насіння дослідних варіантів замочували у розчинах солюбілізованого α -токоферолу оцтовокислого різних концентрацій (0,01; 0,1; 0,5; 1,0 г/л). Насіння пророщували в чашках Петрі за контрольованих параметрів. Для створення сольового фону в 2-6 варіантах використовували середовище 0,1М розчину натрію хлориду, в якому пророщували насіння протягом 7 діб [3].

У ході дослідів визначали вміст ТБК-АП за модифікованою методикою Heath RL., Parker L. [4] з використанням коефіцієнта мілімолярного поглинання малонового діальдегіду ($\epsilon=156 \text{ мМ} \cdot \text{см}^{-1}$), проліну за реакцією з нінгідринним реактивом за Bates [5], каталазну (КАТ) активність (КФ 1.11.1.6) за Королюк М.А. [6], ступінь окисної модифікації білків (ОМБ) за вмістом карбонільних груп [7], вміст водорозчинної фракції білка за О.Н. Lowry. Спектрофотометричні дослідження проводили з використанням однопроменевого СФ «Unico UV-2800». На 7-му добу визначали лабораторну схожість насіння, довжину проростків, довжину коренів, сиру та суху масу проростків і коренів гороху [8].

Дрібноділянковий дослід проводили в 2012 р. в умовах дослідного поля факультету агротехнологій та екології ТДАТУ (м. Мелітополь). Норма висіву – 100 шт./м². Облікова площа однієї ділянки 2,5 м². Розміщення варіантів – систематичним двоярусно-ступінчастим методом у 4-разовій повторності. Посіви гороху дослідних варіантів обробляли розчинами ТФ у концентрації (0,01 та 0,1 г/л) з додаванням димексиду в якості елісітору. Перша обробка була

проведена

у фазі 6-7 листків (35 день після посіву), друга – у фазу бутонізації-початку цвітіння (50 день після посіву). Відбір проб проведено через 2 тижні після обробок. Позакореневий обробіток посівів проводили у вечірній час з нормою використання робочого розчину 300 л/га. В ході досліджу

визначали індекс листової поверхні посівів та елементи структури біологічної врожайності [9]. Результати досліджень опрацьовано статистично.

Результати дослідження та їх обговорення. Пророщення гороху протягом 7 діб показало, що α -ТФ за умов передпосівного замочування насіння викликав зміни у біометричних показниках. Лабораторна схожість насіння гороху за його культивування в умовах натрій-хлоридного засолення значно знижувалася (табл. 1).

Таблиця 1 – Енергія проростання, лабораторна схожість насіння, сира маса та довжина проростків і коренів гороху за дії сольового стресу та токоферолу різних концентрацій, ($X \pm m$, $n=4$)

Варіант	Лаб. схожість, %	Сира маса 100 шт., г		Суха маса 100 шт., г		Довжина, мм	
		проростки	корені	проростки	корені	проростки	корені
(контроль)	85,0 \pm 1,3	8,1 \pm 0,2	11,9 \pm 0,9	0,87 \pm 0,03	1,12 \pm 0,09	21,0 \pm 0,7	46,8 \pm 1,9
0.1M NaCl	70,5 \pm 4,2*	6,6 \pm 0,2*	8,7 \pm 0,9*	0,69 \pm 0,03*	0,84 \pm 0,07*	17,2 \pm 0,7*	35,2 \pm 1,7*
0.1M NaCl +ТФ 0,01г/л	77,0 \pm 1,3*	7,5 \pm 0,2*^	10,9 \pm 0,9	0,77 \pm 0,02*^	1,08 \pm 0,07*^	19,3 \pm 0,6^	37,7 \pm 1,7*
0.1M NaCl +ТФ 0,1г/л	85,0 \pm 3,0^	7,6 \pm 0,3^	11,0 \pm 0,5^	0,82 \pm 0,04^	1,06 \pm 0,05^	18,9 \pm 0,6*^	42,9 \pm 2,1^
0.1M NaCl +ТФ 0,5 г/л	66,5 \pm 8,4*	6,8 \pm 0,3*	8,3 \pm 0,7*	0,64 \pm 0,04*	0,83 \pm 0,07*	15,5 \pm 0,7*	32,6 \pm 1,5*
0.1M NaCl +ТФ 1,0 г/л	57,0 \pm 7,3*	6,1 \pm 0,2*	7,7 \pm 0,6*	0,54 \pm 0,09*	0,68 \pm 0,03*^	14,5 \pm 0,8*^	29,1 \pm 1,5*^

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

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

Водночас, лабораторна схожість насіння гороху обробленого α -ТФ у концентрації 0,01 г/л зростала на 9 %, а в концентрації 0,1 г/л – на 20 % порівняно зі схожістю рослин на сольовому фоні. Під впливом більш високих концентрацій α -ТФ відбувалося пригнічення процесів проростання, тому схожість насіння знижувалася на 5,7–19,1 % ($P \leq 0,05$).

Основний показник життєздатності рослин – це приріст їх біомаси. Зафіксовано вірогідне зростання сирової маси 7-добових проростків та корінців гороху на 14-15 % і 26 % та сухої маси на 12-19 % і 28 % відповідно у випадку передпосівного замочування в розчинах α -ТФ концентрацій 0,01-0,1 г/л. Водночас, підвищені концентрації α -ТФ не сприяли приросту біомаси, а навпаки, навіть, знижували сиру та суху масу, як проростків, так і корінців за умов сольового навантаження. Подібний факт пояснюється тим, що у великих концентраціях α -ТФ починає відігравати роль прооксиданту та посилювати перебіг стресобумовлених реакцій [10].

Відомо, що сольове навантаження викликає пригнічення фази розтягування клітин, тому за умов дії даного фактора спостерігалось зниження довжини проростків і коренів. Проте, за дії α -ТФ у концентраціях 0,01-0,1 г/л зростала довжина проростків на 9,9-12,1 % та коренів на 7,1-21,8 % відповідно, порівняно з необробленим насінням, яке пророщувалося на сольовому фоні. Високі концентрації α -ТФ до 1,0 г/л призводили до суттєвого зниження довжини як проростків, так і коренів гороху. Вважається, що причина гальмування росту рослини на початкових етапах онтогенезу полягає в уповільненні процесів метаболізації елементів живлення в коренях та їх транспорту до проростків.

За умов сольового стресу інтенсифікувалися процеси пероксидації, на що вказує зростання вмісту ТБК-АП (рис. 1А). Обробка насіння гороху α -ТФ лише у концентраціях 0,5 та 1,0 г/л суттєво знижувала вміст ТБК-АП в 7-денних проростках та коренях гороху на 17 та 27 % відповідно.

Сольовий стрес пригнічував КАТ (рис.1Б) активність в досліджуваних рослинах гороху на 8,5 %

в проростках та 6,9 % в коренях, але екзогенний α -ТФ в широкому діапазоні концентрацій стимулював активність каталази.

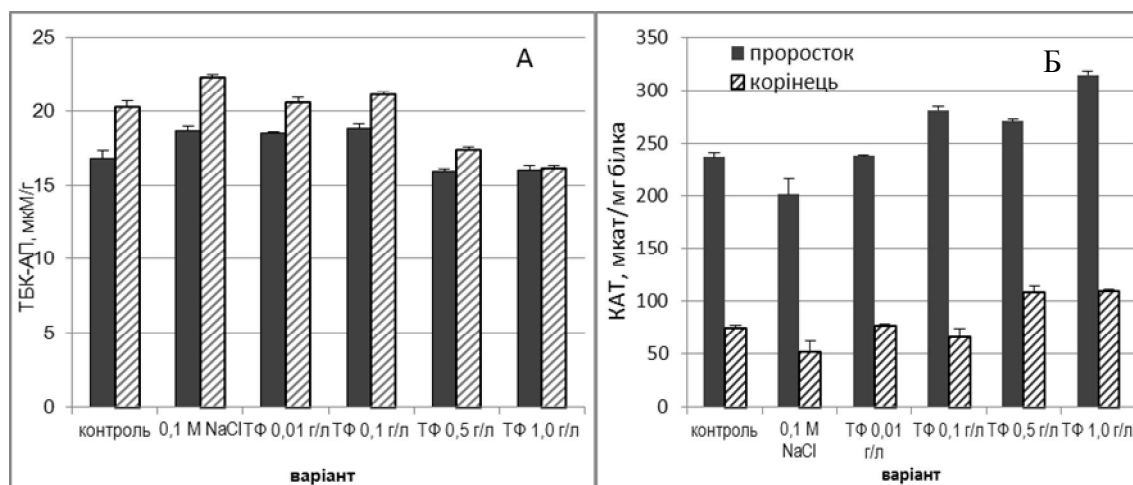


Рис. 1. Вміст ТБК-АП (А) та КАТ активність (Б) в проростках та коренях гороху за дії α -ТФ в умовах сольового стресу.

Причому відмічалася пряма залежність між КАТ активністю та концентрацією α -ТФ. Так, максимально КАТ активність стимулювалася за дії α -ТФ в діапазоні концентрацій 0,1–1,0 г/л, на що вказує зростання її активності в проростках до 56 %, а коренях – до 97 % порівняно з сольовим контролем.

Пролін відносять до так званих «стресових» амінокислот. Посилення синтезу проліну відбувається в ході розвитку стрес-реакції, а накопичення проліну є адаптивною реакцією рослинного організму. За дії незначних концентрацій α -ТФ вміст проліну знижувався до рівня рослин, які пророщувалися на воді. Проте, α -ТФ у концентраціях 0,5-1,0 г/л навпаки викликав гіперекспресію проліну (рис. 2А).

Слід відзначити, що горох є високобілковою культурою, тому окисна модифікація білків негативно впливає на їх використання в процесах пластичного обміну. Так, за дії сольового стресу зафіксовано зростання вмісту КГ ОМБ в проростках та коренях гороху майже в 2 рази. α -ТФ за його застосування дозволив зменшити ступінь ОМБ на 35 % в проростках та на 60 % в коренях, порівняно з рослинами пророщеними на сольовому середовищі (рис. 2Б).

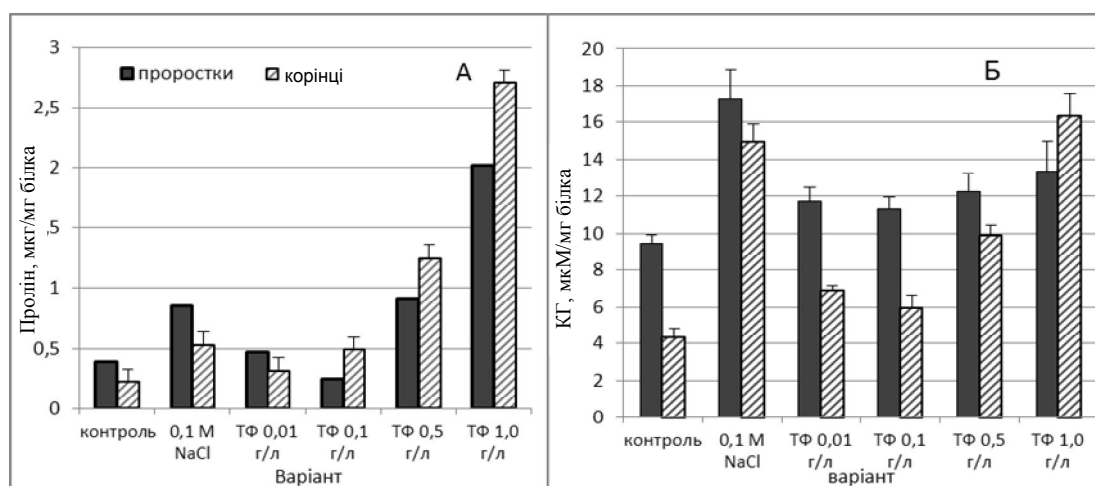


Рис. 2. Вміст вільного проліну (А) та карбонільних груп ОМБ (Б) в проростках та коренях гороху за дії α -ТФ в умовах сольового стресу.

За результатами лабораторного дослідження була визначена найбільш оптимальна концентрація α -ТФ (0,1г/л), яка була перевірена за позакореневої обробки посівів гороху в дрібноділянковому досліді.

Листова поверхня є однією з головних характеристик продуктивності посівів. Було показано, що після першої листової обробки α -ТФ стимулював ріст листового апарату рослин гороху, про що свідчить збільшення ЛПП на 39 % порівняно з даним показником на контрольних ділянках. Після другої обробки дана тенденція зберігалася та ЛПП посівів гороху за дії 0,1 г/л ТФ вірогідно перебільшував контрольний показник в 1,6 рази, а за дії 0,01 г/л ТФ – в 1,37 рази (табл. 2).

Таблиця 2 – Біологічна продуктивність та врожайність гороху за умов обробки токоферолом

Варіант	ЛПП, м ² /м ²	Середня кількість стручків на 1 рослині, шт.	Середня кількість насінин у стручку, шт.	Маса 1000 насінин, г	Біологічна врожайність, кг/м ²
І (к)	0,91	3,32	3,38	212,9	0,158
ТФ 0,1г/л	1,45	3,48	3,45	216,7	0,191
ТФ 0,01 г/л	1,25	3,09	3,56	214,7	0,157
НІР _{0,5}	0,14	0,20	0,17	8,5	0,023

Позакоренева обробка посівів гороху α -ТФ вплинула на формування врожаю. Так, розчин α -ТФ 0,1 г/л сприяв підвищенню кількості стручків на 1 рослині на 4,8 % порівняно зі значеннями контрольного варіанта. Також, зростає кількість насінин в стручку гороху за дії розчинів

α -ТФ в середньому на 5 %. Маса 1000 насінин в перерахунку на базову вологість збільшилася максимально на 3,8 г за умов обробки ТФ в концентрації 0,1 г/л та на 1,8 г за дії 0,01 г/л ТФ.

При розрахунку біологічної врожайності гороху було показано, що дворазова позакоренева обробка посівів гороху α -ТФ з концентрацією 0,1 г/л привела до зростання даного показника на 20 %, тоді як менша концентрація ТФ не вплинула на біологічну врожайність гороху.

Висновки. α -Токоферол в концентраціях 0,01-0,1 г/л за передпосівного замочування насіння гороху збільшував схожість, масу та довжину проростків на ранніх етапах онтогенезу за умов засолення.

ТФ сприяв нормалізації окислативного стану рослин гороху в умовах сольового стресу через гальмування процесу пероксидації ліпідів, зниження ступеня ОМБ та стимулювання КАТ активності. ТФ підвищував солестійкість гороху, на що вказують зміни у вмісті проліну пов'язані з адаптаційною реакцією рослин гороху.

ТФ в концентрації 0,1 г/л за позакореневої обробки посівів гороху вірогідно сприяв зростанню ЛПП, незначно збільшував кількість стручків на рослинах, кількість насінин у стручку та масу 1000 насінин, що привело до зростання біологічної урожайності на 20 %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hardy D.J. Metabolism of tocopherol by *Pisum sativum* / D.J. Hardy, M.A. Violana Gallegos, J.K. Gaunt // *Phytochemistry*. – 1991. – V.30. – P. 1099-1105.
2. Farouk S. Ascorbic Acid and α -Tocopherol Minimize Salt-Induced Wheat Leaf Senescence / S. Farouk // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. – 2011. – V.7(3). – P. 58-79.
3. Vitamin E Is Essential for Seed Longevity and for Preventing Lipid Peroxidation during Germination / S.E. Sattler, L.U. Gilliland, M. Magallanes-Lundback et al. // *The Plant Cell*. – 2004. – V.16 – P. 1419-1432.
4. Heath R.L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation / R.L. Heath, L. Packer // *Archives in Biochemistry and Biophysics*. – 1968. – V.125. – P.189–198.
5. Bates L.S. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies / L.S.Bates, R.P.Waldren, I.D.Teare // *Plant Soil*. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.
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. Reznick A.Z. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay *Methods in Enzymology* / A.Z. Reznick, L. Packer // *Methods in Enzymology*. – 1994. – V. 233. – P. 357–363.
8. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести: ГОСТ 12038– 84. Введённый 01.07.86. – М., 1984. – 30 с.
9. Грицаенко З.М. Методи біохімічних та агрохімічних досліджень рослин та ґрунтів / З.М. Грицаенко, А.О. Грицаенко, В.П. Карпенко. – К.: ЗАТ «Нічлава», 2003. – 320 с.
10. DellaPenna D. Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids / D. DellaPenna, B.J. Pogson // *Annu Rev Plant Biol*. – 2006. –V.57. – P. 711–738.

Влияние токоферола на прорастание гороха (*Pisum sativum L.*) и формирование его биологической урожайности
М.О. Колесников

Приведены результаты влияния экзогенного токоферола на биометрические показатели гороха и состояние оксидативных процессов при прорастании в условиях солевого стресса. Показано позитивное влияние ТФ в концентрации 0,1 г/л на формирование листовой поверхности посевов гороха и его биологическую урожайность.

Ключевые слова: горох, токоферол, солевой стресс, продуктивность.

Надійшла 23.09.2013.