

ВЛИЯНИЕ БИОАНТИОКСИДАНТОВ НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО И ЛЮЦЕРНЫ ИЗМЕНЧИВОЙ

М. Г. ПЕРЕВОЗКИНА, кандидат химических наук, научный сотрудник,
 Д. И. ЕРЕМИН, доктор биологических наук, профессор,
 Р. И. БЕЛКИНА, доктор сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, профессор,
 Л. В. МАРЧЕНКО, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
 В. М. ГУБАНОВА, кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель,
 М. В. ГУБАНОВ, аспирант,

Государственный аграрный университет Северного Зауралья
 (625003, г. Тюмень, ул. Республики, д. 7, тел.: 8 (3452) 46-16-50; e-mail: mgperevozkina@mail.ru)

Ключевые слова: клевер луговой, люцерна изменчивая, семена, энергия прорастания, лабораторная всхожесть, салициловая кислота, парацетамол, бис-[3-(3,5-ди-tert-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид, стабилизатор СО-3, тиофан.

Изучению влияния биологически активных соединений на всхожесть семян многолетних бобовых трав уделяется большое значение в агропромышленном комплексе. Исследования проведены на семенах многолетних бобовых трав: клевере луговом (*Trifolium pratense*) и люцерне изменчивой (*Medicago varia*), для которых характерна твердосемянность. В качестве биоантиоксидантов использовали: салициловую кислоту, парацетамол, тиофан (стабилизатор СО-3). Для обработки семян расход рабочей жидкости брался из расчета: на 100 г семян – 1 мл воды. Контроль обрабатывался дистиллированной водой. Салициловую кислоту и парацетамол растворяли в воде, тиофан растворяли в мицеллярной воде (подсолнечное масло : вода – 3 : 7), в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) использовали додецилсульфат натрия в критической концентрации мицеллообразования (ККМ) 8,3 моль/л. Парацетамол изучали в качестве действующего вещества и в виде таблетки (вспомогательные вещества: крахмал, стеариновая кислота, желатин). Определены посевные качества семян – энергия прорастания и лабораторная всхожесть. Применение биоантиоксидантов снизило твердосемянность у многолетних бобовых трав на 2–21 %. Улучшились посевные качества семян: энергия прорастания повысилась на 1–15 %, показатель лабораторной всхожести увеличился на 2–21 %. Обработка парацетамолом (таблетка, 1%-й раствор) и мицеллярной водой способствовала повышению лабораторной всхожести на 19 и 21 % соответственно у люцерны изменчивой. Влияние 1%-го раствора парацетамола и мицеллярной воды способствовало повышению лабораторной всхожести также у семян клевера лугового на 3 и 7 % соответственно. Обработка салициловой кислотой, парацетамолом и тиофаном приводит к появлению аномальных проростков. Следовательно, применение препаратов может снизить твердосемянность и повысить энергию прорастания и лабораторную всхожесть многолетних трав. Полученные в работе данные могут быть использованы в качестве методологической основы для решения вопросов, связанных с подбором биоантиоксидантов, влияющих на ранние этапы роста и развития растений.

INFLUENCE OF BIOANTIOXIDANTS ON SOWING QUALITIES OF SEEDS OF RED CLOVER AND BASTARD ALFALFA

M. G. PEREVOZKINA, candidate of chemical sciences, researcher,
 D. I. EREMIN, doctor of biological sciences, professor,
 R. I. BELKINA, doctor of agricultural sciences, senior researcher, professor,
 L. V. MARCHENKO, candidate of agricultural sciences, associate professor,
 V. M. GUBANOVA, candidate of agricultural sciences, senior lecturer,
 M. V. GUBANOV, graduate student,

State Agrarian University of Northern Trans-Urals
 (7 Republici Str., 625003, Tyumen; tel.: +7 (3452) 46-16-50; e-mail: mgperevozkina@mail.ru)

Keywords: red clover, bastard alfalfa, seed, germination energy, germination laboratory, salicylic acid, paracetamol, bis-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide, stabilizer CO-3, thiophane.

The study of influence of biologically active compounds on the germination of seeds of perennial legumes is given great importance in the agricultural sector. The research are undertaken on the seed of long-term leguminous herbaries: red clover (*Trifolium pratense*) and the alfalfa bastard (*Medicago varia*), which characterize with seed-hardness. As bioantioxidants used: salicylic acid, paracetamol, thiophane (stabilizer CO-3). For seed treatment the working fluid flow rate took up: 100 g of seeds – 1 ml water. Control was treated with distilled water. Salicylic acid and paracetamol were dissolved in water, thiophane dissolved in micellar water (sunflower oil : water – 3 : 7), sodium dodecyl sulfate used as a surface active agent (surfactant) in the critical micelle concentration (CMC) of 8,3 mol/l. Paracetamol studied as active substance and in the form of tablets (auxiliary substances: starch, stearic acid, gelatin). The qualities of seeds are determined: germination energy and laboratory germination. Application of preparations was brought down by seed-hardness at long-term leguminous herbaries on 2–21 %. Sowing internalss of seed became better: energy of germination increased on 1–15 %, index of laboratory germination on 2–21 %. Treatment of paracetamol (pill, 1 % solution) and micellar water assisted the increase of laboratory germination the on 19 and 21 % accordingly at the alfalfa bastard. Influence of 1 % solution of paracetamol and micellar water assisted the increase of laboratory germination also at the seed of red clover on 3 and 7 % accordingly. Processing salicylic acid, paracetamol and thiophane leads to abnormal seedlings. Consequently, application of preparations can bring down seed-hardness and promote the sowing internalss of seed at the low-germination seed of long-term herbaries. Obtained data can be used as a methodological basis for solving issues relating to the selection of bioantioxidants affecting the early stages of plant growth and development.

Положительная рецензия представлена Н. А. Боме, доктором сельскохозяйственных наук, профессором, заведующим кафедрой ботаники, биотехнологии и ландшафтной архитектуры Института биологии Тюменского государственного университета.

В настоящее время биологически активные соединения находят широкое применение во многих областях агропромышленного комплекса [3, 5, 9, 11]. Создание соединений с заданными свойствами открывает большие возможности их использования. Действие различных стрессовых ситуаций, таких как неблагоприятные факторы внешней окружающей среды, воздействие химических препаратов на растения, может привести к изменению метаболизма и даже гибели клеток. Для предотвращения окислительного стресса и снижения последствий его воздействия широко используют биоантиоксиданты [1, 9]. Биологически активные соединения помогают растениям эффективно преодолевать низкие температуры, недостаточность влаги, нехватку питательных веществ в почве, обсемененность бактериями и почвенными грибами. В связи с этим представлялось крайне важным оценить влияние препаратов на всхожесть семян многолетних бобовых трав.

Все виды многолетних бобовых трав содержат много твердых семян, не прорастающих или медленно прорастающих в год посева. Твердосемянность – это непроницаемость семенной оболочки для воды, воздуха и питательных веществ [6, 8, 10, 12]. Прорастание семени начинается с роста корешка, который прорывает оболочку и начинает быстро расти в длину. Некоторые химические вещества могут в значительной степени изменить характер прорастания и оказать большое влияние на биохимические особенности развивающегося проростка.

Настоящая работа продолжает серию публикаций, посвященных изучению влияния биоантиоксидантов на всхожесть семян различных культур. Механизм действия соединений основывается на взаимосвязи природных ингибиторов окисления (которые уже присутствуют в семенах) и синтетических антиоксидантов (которыми обрабатывался семенной материал). Ранее было показано влияние используемых антиоксидантов и их смесей с природными соединениями на окисление модельных липидных субстратов (*in vitro*), изучен механизм их действия в многостадийном процессе окисления липидов [4, 7]. Считали актуальным протестировать биоантиоксиданты на семенном материале (*in vivo*), определить их оптимальные концентрации.

Салициловая кислота является регулятором роста растений, повышает их устойчивость к разнообразным по природе возбудителям болезней, защищает растение от широкого спектра стрессовых факторов, в том числе УФ-облучения [2]. Парацетамол применяется в медицинской практике, используется как противовоспалительное, жаропонижающее и обезболивающее средство, воздействие препарата на растения ранее не изучалось. Тиофан – это полифенольный серосодержащий антиоксидант, синтезиро-

ванный на кафедре химии Новосибирского государственного педагогического университета совместно с Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН [4]. Соединение не обладает местным и общетоксическим действием, не оказывает влияние на эмбриогенез и развитие потомства, что позволяет использовать его в качестве биоантиоксиданта. Ранее было доказано [4, 7], что антиоксидантные свойства салициловой кислоты в 10–15 раз уступают ингибирующей активности парацетамола и тиофана в соизмеримых концентрациях. Действие низкотоксичных антиоксидантов основано на их способности в биологической мембране взаимодействовать с пероксидными радикалами. Тиофан и парацетамол дополнительно разрушают продукты окислительной деструкции липидов – гидропероксиды – нерадикальным путем. Эти два механизма обеспечивали высокую эффективность антиоксидантов.

Цель и методика исследований. Цель исследований – провести биологический тест-контроль препаратов на семенах многолетних бобовых трав.

Задачи: 1) выявить влияние биоантиоксидантов на семена многолетних бобовых трав; 2) определить посевные качества семян (энергия прорастания, лабораторная всхожесть); 3) подобрать препараты и их оптимальные нормы расхода.

Обработка семян препаратами проводилась за три дня до начала эксперимента. Количество рабочей жидкости брали из расчета 1 мл на 100 г семян. В контрольном варианте семена обрабатывались только дистиллированной водой. Посевные качества семян – энергию прорастания и всхожесть – определяли по ГОСТ Р 52325-2005 («Семена сельскохозяйственных культур. Сортовые и посевные качества. Общие технические условия»). Семена проращивали в термостате при температуре 20 °С. Энергию прорастания определяли на 3-й день, лабораторную всхожесть – на 7-й день.

В качестве препаратов использовали: салициловую кислоту (2-гидроксibenзойную кислоту), парацетамол (N-(4-гидроксифенил)ацетамид), тиофан (бис-[3-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид, стабилизатор СО-3). Салициловую кислоту и парацетамол растворяли в воде, тиофан растворяли в мицеллярной воде (подсолнечное масло : вода – 3 : 7), в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) использовали додецилсульфат натрия в критической концентрации мицеллообразования (ККМ) 8,3 моль/л. Парацетамол изучали в качестве действующего вещества и в виде таблетки (вспомогательные вещества: крахмал, стеариновая кислота, желатин).

Результаты исследований. Исследования проведены на семенах многолетних бобовых трав: клевере луговом (*Trifolium pratense*) – сорт Памяти Бурлаки

Таблица 1
Посевные качества семян клевера лугового (*Trifolium pratense*) в зависимости от обработки препаратами
Table 1

Sowing internalss of seed of clover pratal (*Trifolium pratense*) depending on treatments preparations

Вариант <i>Variant</i>	Энергия прорастания, % <i>Energy of germination, %</i>	Лабораторная всхожесть, % <i>Laboratory germination, %</i>	Процент твердых семян <i>Percent of hard seeds</i>
1. Контроль (дистиллированная вода) <i>1. Control (distilled water)</i>	77	77	18
2. Салициловая кислота 0,1 % <i>2. Salicylic acid 0,1 %</i>	70	72	11
3. Салициловая кислота 0,5 % <i>3. Salicylic acid 0,5 %</i>	70	72	21
4. Салициловая кислота 1 % <i>4. Salicylic acid 1 %</i>	72	73	17
5. Парацетамол 0,1 % <i>5. Paracetamol 0,1 %</i>	68	70	16
6. Парацетамол 0,5 % <i>6. Paracetamol 0,5 %</i>	69	70	21
7. Парацетамол 1 % <i>7. Paracetamol 1 %</i>	79	80	13
8. Парацетамол (таблетка) 1 % <i>8. Paracetamol (tablet) 1 %</i>	72	73	16
9. Парацетамол 0,1 % + Салициловая кислота 0,1 % <i>9. Paracetamol 0,1 % + Salicylic acid 0,1 %</i>	75	75	17
10. Мицеллярная вода <i>10. Micellar water</i>	79	84	13
11. Тиофан 0,1 % <i>11. Thiophane 0,1 %</i>	66	69	17
12. Тиофан 0,5 % <i>12. Thiophane 0,5 %</i>	71	72	11
13. Тиофан 1,0 % <i>13. Thiophane 1,0 %</i>	72	76	17
Среднее <i>Average</i>	72	74	16
НСР ₀₅ SSD ₀₅	3	3	3

и люцерне изменчивой (*Medicago varia*) – сорт Быстрая, выращенных на опытном поле ГАУ Северного Зауралья в 2015 г. Для семян многолетних бобовых трав характерна твердосемянность. Процент твердых семян у клевера в нашем опыте колебался от 11 % (варианты 2, 12, табл. 1) до 21 % (варианты 3, 6, табл. 1).

Семена были обработаны салициловой кислотой, которая согласно современной классификации относится к фитогормонам. Фитогормоны участвуют в регуляции обмена веществ на всех этапах жизни растений – от развития зародыша до полного завершения жизненного цикла и отмирания. После обработки семян салициловой кислотой энергия прорастания и лабораторная всхожесть в сравнении с контрольным вариантом снизились на 5–7 % и 4–5 % соответственно. В варианте 2 (салициловая кислота 0,1 %) отмечено снижение твердых семян на достоверном уровне на 7 % по сравнению с контролем (18 %), что привело к увеличению ненормальных проростков.

Значительное снижение посевных показателей наблюдалось после обработки семян парацетамом

лом в вариантах 5 (–9 и –7 %), 6 (–8 и –7 %), 8 (–5 и –4 %) соответственно (табл. 1). Исключением был вариант 7 (табл. 1), где в пределах ошибки опыта отмечено превышение над контрольным вариантом на +2 (энергия прорастания) и +3 % (лабораторная всхожесть). Следует выделить положительное влияние варианта 7 на снижение твердосемянности на достоверном уровне (НСР₀₅ = 3) в сравнении с контролем, количество твердых семян уменьшилось на 5 %.

Бинарная смесь парацетамол 0,1 % + салициловая кислота 0,1 % изменила посевные качества семян в пределах ошибки опыта на –2 % (НСР₀₅ = 3).

Обработка мицеллярной водой снизила твердосемянность на достоверном уровне (НСР₀₅ = 3) на 5 %. Соответственно количество проросших семян увеличилось на 7 %, и лабораторная всхожесть составила 84 %.

При обработке тиофаном можно отметить как положительные, так и отрицательные стороны. При концентрации 0,1 % наблюдается значительное снижение энергии прорастания (–11 %) и лабораторной всхожести (–8 %). При концентрации 0,5 % отмечено резкое снижение твердых семян в сравнении

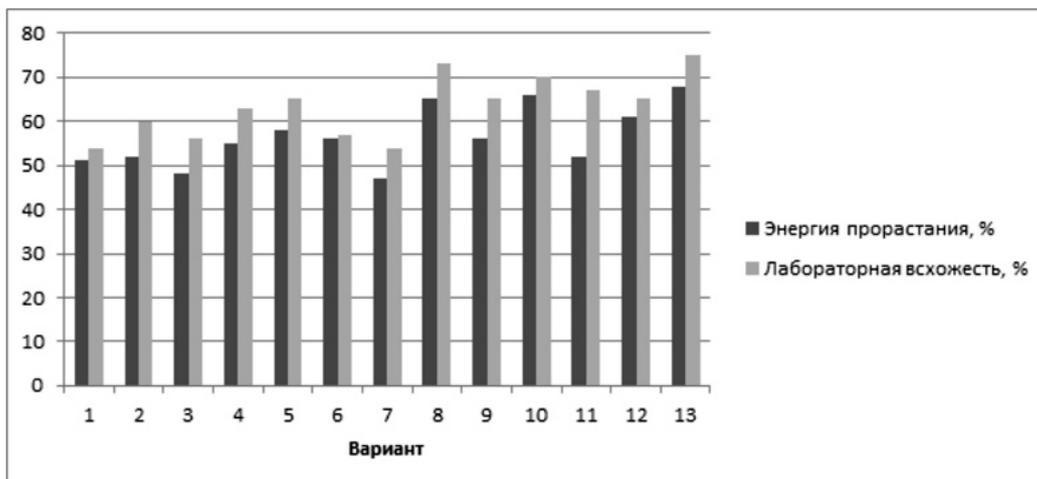


Рис. 1. Посевные качества семян люцерны изменчивой (*Medicago varia*) в зависимости от обработок препаратами. Номер варианта соответствует номеру в табл. 1

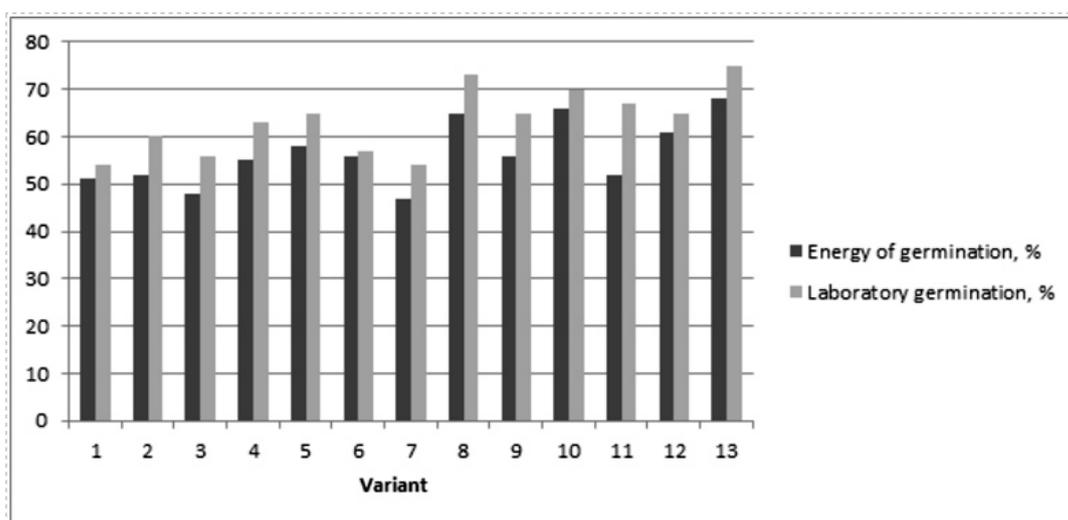


Fig. 1. Sowing internalss of seed of alfalfa changeable (*Medicago varia*) depending on treatments preparations. The number of variant corresponds the number in table 1

нии с контрольным вариантом на 7 %, но количество всхожих семян не увеличивается, разница с контролем – 6 % (энергия прорастания) и 5 % (лабораторная всхожесть) при $HCP_{05} = 3$, т. е. разница достоверна. В этом случае увеличивается количество неправильно проросших семян, которые как всхожие не засчитываются. При максимальной концентрации (1 %) отрицательное действие препарата тиофан проходит на ранних стадиях прорастания семени, т. е. при определении энергии прорастания, которая меньше контроля на 5 %, а вот дальнейшего снижения лабораторной всхожести не наблюдается, она на уровне контрольного варианта (77 %) – 76 % (табл. 1).

Следовательно, применение препаратов может снизить твердосемянность многолетних бобовых трав, что подтверждено на достоверном уровне в вариантах 2 (салициловая кислота 0,1 %), 7 (парацетамол 1 %), 10 (мицеллярная вода), 12 (тиофан 0,5 %). Обработка салициловой кислотой (0,1 %) и тиофаном (0,5 %) приводит к появлению ненормальных (аномальных) проростков. И только влияние пара-

цетамола (1 %) и мицеллярной воды способствовало повышению лабораторной всхожести на 3 и 7 % соответственно без побочных явлений.

Иначе повлияла обработка препаратами на семена люцерны изменчивой, которые имели низкие посевные показатели: энергия прорастания – 51 %, лабораторная всхожесть – 54 % в контрольном варианте, самое максимальное количество твердых семян (31 %) наблюдалось также на контроле. Снижение твердосемянности на 2 % (салициловая кислота 0,5 %) – 19 % (мицеллярная вода) отмечено на всех вариантах, а количество проросших семян в вариантах, обработанных препаратами, увеличилось. Энергия прорастания в десяти вариантах из двенадцати повысилась на 1–15 %. В вариантах 5, 8, 9, 10, 12 энергия прорастания составила 58 %, 65 %, 61 %, 68 %, 66 % соответственно (рис. 1). Показатель лабораторной всхожести в обработанных вариантах увеличился на 2–21 % (рис. 1). В вариантах 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13 превышение над контролем достоверно ($HCP_{05} = 6$). Одновременно с количеством пророс-

ших семян увеличивается число неправильно проросших проростков в вариантах 2, 3, 4, где обработка проводилась салициловой кислотой. При обработке парацетамолом и тиофаном наблюдалась аналогичная ситуация – аномальные проростки. Лучшие результаты получены в вариантах 8 (парацетамол, 1 %) и 10 (мицеллярная вода), где лабораторная всхожесть достигла 73 и 75 % соответственно (рис. 1), что практически соответствует показателям ГОСТ оригинальных семян.

Полученные в работе данные могут быть использованы в качестве методологической основы для решения вопросов, связанных с подбором биоантиоксидантов, влияющих на ранние этапы роста и развития растений.

По материалам исследования поданы заявки на изобретение: № 2016119294 RU (дата подачи – 18 мая 2016 г.); № 2016119295 RU (дата подачи – 18 мая

2016 г.); № 2016119475 RU (дата подачи – 19 мая 2016 г.); № 2016119476 RU (дата подачи – 19 мая 2016 г.).

Выводы.

1. Применение биоантиоксидантов может снизить твердосемянность и повысить посевные качества семян многолетних бобовых трав.

2. Энергия прорастания у многолетних трав повысилась на 1–15 %, показатель лабораторной всхожести увеличился на 2–21 %.

3. Подобраны биоантиоксиданты: парацетамол (таблетка, 1%-ный раствор) и мицеллярная вода (подсолнечное масло : вода – 3 : 7), которые способствовали повышению лабораторной всхожести на 19 и 21 % соответственно.

4. Выявлено отрицательное влияние салициловой кислоты, парацетамола и тиофана, которое приводит к появлению ненормальных (аномальных) проростков.

Литература

1. Албантова А. А. Влияние биологически активных соединений с антиоксидантной и рострегулирующей активностью на клеточные и субклеточные структуры : дис. ... канд. биол. наук. М. : ИБХФ, 2015. 128 с.
2. Байбурина Э. В., Фазлутдинова А. И. Влияние салициловой кислоты на растения (теоретические аспекты) // Молодой ученый. 2015. № 7. С. 233–234.
3. Бахтенко Е. Ю., Курапов П. Б. Регуляция роста и развития растений : учеб. пособие. Вологда : Вологодский гос. ун-т, 2014. 192 с.
4. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Кандалинцева Н. В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. Saarbrücken, Deutschland : LAPLAMBERT Academic Publishing, 2012. 488 с.
5. Нефедьева Е. Э., Белопухов С. Л., Верхотуров В. В., Лысак В. И. Роль фитогормонов в регуляции прорастания семян // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2013. № 1. С. 61–66.
6. Оразбаев С., Салакшинова Б., Мендибаева Г., Алипбеков К. Влияние скарификации на твердосемянность многолетних бобовых трав // Международный научно-исследовательский журнал. 2013. № 12-2. С. 14–16.
7. Перевозкина М. Г. Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных соединений кинетическими методами : монография. Новосибирск : СибАК, 2014. 240 с.
8. Сартаков М. П., Марченко Л. В. Биологический тест-контроль гуминовых кислот торфов Среднего Приобья на семенах многолетних бобовых трав // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2011. № 1. С. 39–43.
9. Тимошкин О. А., Тимошкина О. Ю., Яковлев А. А. Урожайность семян многолетних бобовых трав при применении микроудобрений и биорегуляторов // Кормопроизводство. 2013. № 8. С. 18–20.
10. Туркова Е. В. Морфофизиологические особенности побегообразования многолетних бобовых трав // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. 2015. № 11. С. 7–14.
11. Хадеев Т. Г., Лапина М. Ш. Приемы повышения полевой всхожести семян люцерны // Защита и карантин растений. 2012. № 6.
12. Шевченко А. П., Лукин А. Н. Исследование пневматического скарификатора для предпосевной обработки семян многолетних бобовых трав // Омский научный вестник. 2013. № 3. С. 138–141.

References

1. Albantova A. A. Influence of biologically active compounds with antioxidant and growth-regulatory activity at the cellular and subcellular structures : dis. ... cand. of biol. sciences. M. : Institute of Biochemical Physics, 2015. 128 p.
2. Bajburina E. V., Fazlutdinova A. I. Influence of salicylic acid on plants (theoretical aspects) // Young scientist. 2015. № 7. P. 233–234.
3. Bakhtenko E. Yu., Kurapov P. B. Adjusting of height and development of plants : tutorial. Vologda : Vologda

State University, 2014. 192 p.

4. Menshchikova E. B., Lankin V. Z., Kandalintseva N. V. Phenolic antioxidants in biology and medicine. Saarbrücken, Deutschland : LAPLAMBERT Academic Publishing, 2012. 488 p.

5. Nefed'eva E. E., Belopukhov S. L., Verkhoturov V. V., Lysak V. I. Role of phytohormones in regulation of seed germination // Proceedings of Higher School. Applied Chemistry and Biotechnology. 2013. № 1. P. 61–66.

6. Orazbaev S., Salakshinova B., Mendibaeva G., Alipbekov K. Effect of scarification on firmly seedy perennial legumes // International Research Journal. 2013. № 12-2. P. 14–16.

7. Perevozkina M. G. Testing of antioxidant activity of polyfunctional compounds by kinetic methods : monograph. Novosibirsk : SibAC, 2014. 240 p.

8. Sartakov M. P., Marchenko L. V. Biological test-check of the peat humic acids in the Middle Priobje on the perennial leguminous herb seeds // Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University. 2011. № 1. P. 39–43.

9. Timoshkin O. A., Timoshkina O. Yu., Yakovlev A. A. Seeds productivity of perennial leguminous grasses dependent on micro-fertilizers and biological regulators application // Feed production. 2013. № 8. P. 18–20.

10. Turkova E. V. Morpho-physiological particularly tillering perennial legumes // Agricultural science and agricultural sector at the turn of the century. 2015. № 11. P. 7–14.

11. Khadeev T. G., Lapina M. Sh. Techniques for increasing the germination rate of alfalfa in the field // Plant Protection and Quarantine. 2012. № 6.

12. Shevchenko A. P., Lukin A. N. Pneumatics scarifier for treatment of perennial leguminous grasses seeds // Omsk Scientific Bulletin. 2013. № 3. P. 138–141.