

РИЗОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНОВОГО ПРЕПАРАТА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ ХОРИОНОВ ЦИСТ ARTEMIA SPECIES НА ПРИМЕРЕ СЕМЯН ЛЬНА-ДОЛГУНЦА

Е.А. Морозова, А.Л. Верещагин

Установлено ростостимулирующее действие хитозансодержащих препаратов приготовленных на основе цист и хорионов цист рачка Artemia sp. на семена льна-долгунца. Определены оптимальные значения pH растворов и степени их разведения.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях неблагоприятной агроклиматической ситуации Алтайского края актуальной является задача поиска экологически безопасных ростостимулирующих препаратов и средств защиты растений. Этим требованиям отвечает хитозан – продукт дезацетилирования хитина. В настоящее время в России в промышленных масштабах хитозан получают из панциря промысловых дальневосточных крабов. В данной работе использовался местный источник сырья – некондиционные цисты и пустые оболочки цист (хорионы) соленоводного рачка Artemia sp. К преимуществам данного вида сырья следует отнести доступность и низкую себестоимость, так как оболочки цист в настоящее время являются отходом.

Применение хитиновых соединений, как стимулятора роста растений, началось до того, как были изучены механизмы их действия на разные структуры растительной ткани. В настоящее время ведутся работы по созданию препаратов на основе композиций хитозана с веществами, близкими по структуре «защитным» веществам самого растения, которые могут найти применение для получения экологически чистых и безопасных сельскохозяйственных продуктов для протравливания семян и обработки вегетирующих растений. Известны композиции хитозана с молочной, уксусной, глутаминовой, янтарной, аспарагиновой и другими кислотами, которые показали различную стимулирующую эффективность и патогенную активность сельскохозяйственных культур [3, 4, 5]

ПОЛУЧЕНИЕ ХИТОЗАНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Для получения исследуемого хитозансодержащего препарата из хитинсодержащего сырья применяли низкотемпературный способ дезацетилирования. Хорионы цист зали-

вали 40%-ным раствором КОН при модуле 1:10 и выдерживали 7 суток при комнатной температуре (от 18°C до 22°C). Для обработки семян использовались растворы, разбавленные дистиллированной водой, с различной степенью разведения (1:100, 1:1000, 1:10000). Корректировку pH производили фосфорной кислотой. Таким же образом получали ростостимулирующий препарат из некондиционных цист Artemia sp., который наряду с хитозаном содержит в своем составе комплекс жирных кислот и аминокислоты. Растворы необходимо использовать сразу после приготовления. Это связано с тем, что на третьи сутки хранения в темноте при температуре 20°C в закрытой таре из полиэтиленовых пакетов препараты, содержащие жирные кислоты, приобретают характерный затхлый запах и мутнеют тем больше, чем ниже pH раствора. Видимые изменения в препаратах, приготовленных из оболочек цист, наблюдаются на седьмые сутки, а для растворов со степенью разведения 1:100, и значением pH=9 – на четырнадцатые.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Анализ биологической активности хитозансодержащих препаратов проводился в лабораторных условиях по относительной энергии прорастания семян льна-долгунца сорта «Томский-14», определение которой проводили по ГОСТ 12038-84. Семена проращивали в термостате при температуре 24±2°C в течение трех суток. Контрольным значением служила энергия прорастания семян в дистиллированной воде, составившая 54 ± 6%. Ризогенная активность определялась по степени развития корневой системы. Семена, взятые в качестве объекта исследования, имели изначально заниженную энергию прорастания вследствие хранения в течение четырех лет.

В качестве эталона для сравнения семена так же проращивали в питательном растворе – смесь Прянишникова (pH от 4,8 до

5,3, содержание солей в г/л NH_4NO_3 – 0,334, KNO_3 – 0,614, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – 0,70, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 0,25, KCl – 0,614, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,50, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,50), разбавленном в два раза дистиллированной водой [6]. Средняя энергия прорастания составила $57,5 \pm 6,5$ % или 106 % по сравнению с контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Опыты проводились в трехкратной повторности. Результаты представлены в таблице 1 и таблице 2.

Таблица 1
Влияние pH и степени разведения на энергию прорастания семян льна-долгунца (в процентах от контроля), обработанных хитозансодержащим препаратом из хорионов цист *Artemia* sp.

pH	Степень разведения препарата		
	1:100	1:1000	1:10000
9	117±5	110±5	-
8	111±5	99±5	-
7	109±5	105±5	69±5
6	117±5	97±5	90±5
5	101±5	106±5	67±5
4	117±5	105±5	86±5
3	0	125±5	110±5

Для препарата, приготовленного из хорионов цист (таблица 1), положительные результаты получены при степени разведения 1:100 и 1:1000. Максимальная энергия прорастания на 25% выше, чем контроль и достигается при pH=3 и степени разведения 1:1000. Стократное разведение дает повышение энергии прорастания на 17% при pH=9, pH=6 и pH=4. Разведение 1:10000 для обработки семян оказалось малоэффективным. За исключением опыта при исходном pH=3 энергия прорастания оказалась ниже, чем в у контроля.

Таблица 2
Влияние pH и степени разведения на энергию прорастания семян льна-долгунца (в процентах от контроля), обработанных хитозансодержащим препаратом из цист *Artemia* sp.

pH	Степень разведения препарата		
	1:100	1:1000	1: 0000
8	109±5	-	-
7	111±5	-	-
6	106±5	91±5	-
5	125±5	100±5	83±5
4	91±5	101±5	105±5
3	89±5	93±5	96±5

Для препарата, приготовленного из цист (таблица 2), эффективным является разведение 1:100, максимальные результаты (энергия прорастания на 25% выше, чем при использовании дистиллированной воды) достигаются при использовании слабокислого раствора с pH=5. Дальнейшее подкисление ведет к резкому снижению количества проросших семян. Разведение препарата в соотношении 1:1000 и 1:10000 не дало положительных результатов.

Из представленных в таблицах 1 и 2 данных следует, что максимальная энергия прорастания достигнута преимущественно при разбавлениях 1:100 в диапазоне значений pH от 4 до 9.

Изучение проросших семян показало, что семена, проросшие при pH=3 и pH=4, характеризуются короткими (до 1,5 см) корешками. Кроме того, при pH=3 часто уже на третьи сутки наблюдается развитие плесени, семена выглядят, словно покрытые тонкой паутиной. Наиболее развитыми оказались семена, обработанные растворами с pH=5 и pH=6, средняя длина корней составляла от 5 до 7 см, в некоторых случаях наблюдалось появление зародышевых листочков.

Для оценки степени влияния содержащегося в препаратах хитозана была проведена серия опытов, в которых растения обрабатывались различными растворами ортофосфата калия. Для их приготовления 40 %-ный раствор KOH разводили в 100, 1000 и 10000 раз и подкисляли с помощью H_3PO_4 до нужного значения pH. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3
Влияние pH и степени разведения на энергию прорастания семян льна-долгунца (в процентах от контроля), обработанных ортофосфатом калия

pH	Степень разведения препарата		
	1:100	1:1000	1:10000
9	114±5	78±5	97±5
8	97±5	103±5	100±5
7	121±5	105±5	83±5
6	123±5	99±5	95±5
5	133±5	93±5	95±5
4	114±5	81±5	81±5
3	97±5	107±5	81±5

Как видно из данных таблицы 3 обработка семян раствором K_3PO_4 приводит к значительному повышению энергии прорастания только при разведении 1:100. В

РИЗОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНОВОГО ПРЕПАРАТА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ ХОРИОНОВ ЦИСТ ARTEMIA SPECIES НА ПРИМЕРЕ СЕМЯН ЛЬНА-ДОЛГУНЦА

области нейтрального и слабокислого значения pH энергия прорастания превышает контрольное значение на 20 – 30 %, что даже больше, чем при использовании хитозансодержащих препаратов. Однако как видно из рисунков 1, 2 и 3 при обработке хитозансодержащими препаратами длина корней достигает в среднем от 5 до 6 сантиметров, а при обработке фосфатом калия семена только наклевываются – длина корешков не превышает 5 миллиметров.

Сравнивая данные таблиц 1, 2 и 3 видно, что наибольшее повышение энергии прорастания достигается при использовании фосфата калия. Введение в раствор для обработки семян хитозана несколько снижает энергию прорастания, но при этом стимулирует дальнейшее развитие наклюнувшихся семян. Причем наибольшей ризогенной активностью обладает препарат из хорионов цист, не содержащий жирных кислот. Кроме того, препарат, приготовленный из цист, проявляет активность при слабокислой реакции среды, что наряду с его богатым органическими соединениями составом (жирные кислоты, аминокислоты) является оптимальными условиями для развития многих микроорганизмов. Препарат же приготовленный из хорионов проявляет активность в широком диапазоне pH (хорошие результаты получены при pH=4, pH=6 и pH=9). Таким образом, можно подобрать условия, способствующие микробиологической стабильности самого препарата, и препятствующие развитию патогенной микрофлоры на семенах на стадии прорастания.



Рис.1. Семена, обработанные раствором K_3PO_4 при разведении 1:100 и pH=5

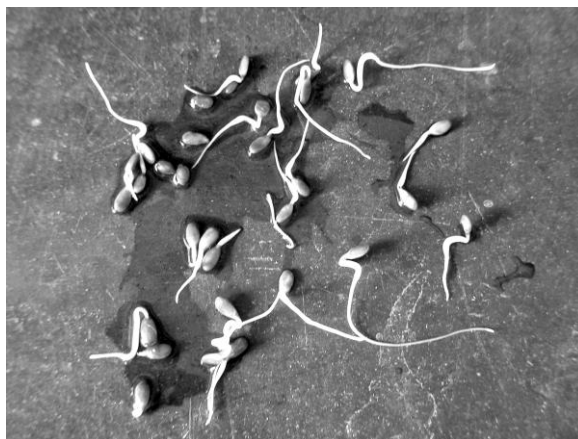


Рис. 2. Семена, обработанные хитозансодержащим препаратом из цист *Artemia* sp. при разведении 1:100 и pH=5

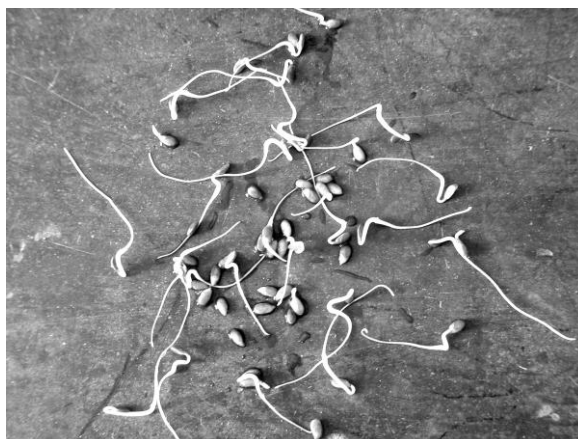


Рис. 3. Семена, обработанные хитозансодержащим препаратом из хорионов цист *Artemia* sp. при разведении 1:100 и pH=5

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, была показана эффективность применения хитозансодержащих препаратов на основе цист и хорионов цист соленоводного рачка *Artemia* sp. для стадии прорастания семян льна в лабораторных условиях. Доказана ризогенная активность хитозансодержащих препаратов по отношению к семенам льна-долгунца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Озерецковская О.Л., Васюкова Н.И., Зиновьева С.В. Хитозан как элиситор индуцированной устойчивости растений.

Е.А. МОРОЗОВА, А.Л. ВЕРЕЩАГИН

2. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г.Скрябина, Г.А.Вихоревой, В.П.Варламова. – М.:Наука, 2002. – 368 с.:ил.

3. Немцев С.В., Авдиенко И.Д., Варламов В.П., Скрябин К.Г. Росторегулирующее действие низкомолекулярного хитозана / Новые достижения в исследовании хитина и хитозана: Материалы Шестой Международной конференции. – М.: изд-во ВНИРО, 2001. – 398 с.

4. Агафонов Ю.В., Быков В.М., Кривошеина Л.И., Сидоров Н.Н., Белоцерковец В.М.. Применение хитозана в сельскохозяйственном и декоративном растениеводстве / Тез. докл. Материалы пятой конференции «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана» – М.: ВНИРО, 1999. – С. 79-81.

5. Рашидова С.Ш., Милушева Р.Ю., Воропаева Н.Л., Рубан И.Н. Использование хитина в сельском хозяйстве / Тез. докл. материалов пятой конференции «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана» – М.: ВНИРО, 1999. – С. 101-103.

6. Гамзазаде А.И., Исмаилов Э.Я., Тютюрев С.Л., Коломиец А.Ф., Чкаников Н.Д. Новая модификация индуктора болезнеустойчивости растений и регулятора роста / Тез. докл. Материалы пятой конференции «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана»: – М.: ВНИРО, 1999. – С.83-86.

7. Прянишников Д.Н. Избранные сочинения в 3-х томах. - т.1 Агрохимия. - М.: Колос, 1965. - 708с.

8. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1986. – 29с.