

## МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 57.004:579.64+579.00

### **ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И МИКРОБИОТУ СЕМЯН И ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM*)**

**А.А. Гаврилова, С.С. Тарасов, О.А. Шарабаева**

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,  
Нижний Новгород

Работа посвящена изучению влияния озono-воздушной смеси в концентрации 300 мг/м<sup>3</sup> в течение 5, 20 и 40 минут на замоченные семена гороха посевного на показатели: всхожести, энергии прорастания, длину, массу корней и побега, а также на степень заражённости микроорганизма. В работе использовались методики подготовки растительного материала путём замачивания семян в течение 24 часов, воздействия озono-воздушной смесью соответствующей концентрацией, методика выращивания проростков на гидропонике, методика посадки озонированных семян на питательную среду Мурасиге-Скуга, изучения энергии прорастания, анализ морфометрических показателей и заражённости грибковой и бактериальной микрофлорой. Показана зависимость между временем озонирования и исследуемыми параметрами. Так, установлено стимулирующее действие озона на общую всхожесть и энергию прорастания, а также уменьшение заражённости грибами.

**Ключевые слова:** озон, предпосевная обработка семян, активные формы кислорода (АФК), морфометрия, микрофлора.

DOI: 10.26456/vtbio7

**Введение.** Предпосевная обработка семян – важная технологическая часть процесса возделывания сельскохозяйственных культур, обеспечивающая защиту семян от болезней и вредителей. В настоящее время всё больше уделяется внимание химически безвредным, экологически чистым способам обработки семян (Программа по развитию АПК Нижегородской области, 2013). Одним из таких методов, удовлетворяющим данным требованиям, на наш взгляд является озонирование. Обработка озном нашла широкое применение в различных отраслях народного хозяйства: от подготовки питьевой воды, очистки сточных вод, до медицины и перерабатывающей промышленности (Можаев, 2004; Некрасова,

2011; Троцкая, 2008). В последнее время всё чаще предлагается использование озона в качестве стимулирующего и дезинфицирующего фактора в сельском хозяйстве (Кубеев, 2015). В связи с этим встаёт вопрос изучения его дезинфицирующих и стимулирующих свойств в отношении важных сельскохозяйственных культур. В литературе так же имеется ряд данных о влиянии озона на свободно-радикальные процессы живых организмов (Tausz, 2004). Озон способен окислять биополимеры, тем самым усиливать процессы биологического окисления и вызывать окислительный стресс (Klause, 2004). Этот газ, возможно, за счёт генерации свободных радикалов оказывает информационное воздействие на клетки семян и проростков (Veselin, 2012; Bailly, 2008, Klause, 2004) На основании изложенного целью нашей работы явилось: изучить влияние озono-воздушной смеси с разной дозой озона и длительностью действия на показатели прорастания семян гороха и степень его поражения эндофитной микробиотой.

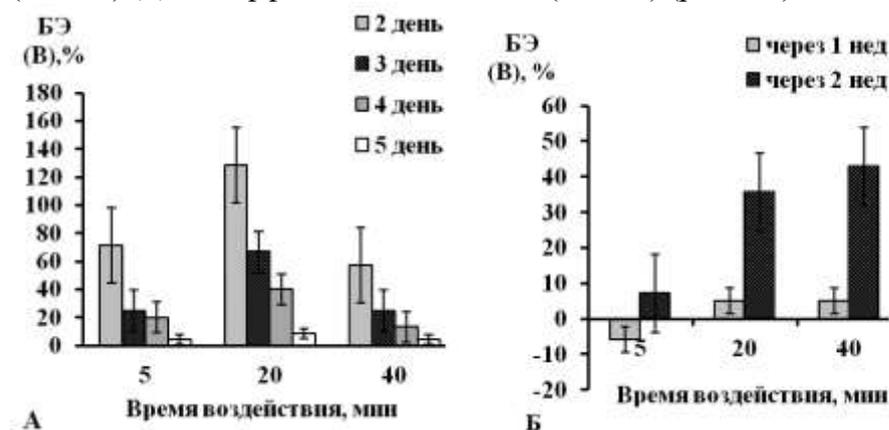
**Методика.** В качестве изучаемого биологического объекта были выбраны семена гороха посевного (*Pisum sativum*) сорта Альбумен. Набухшие семена гороха во влажном состоянии обрабатывались озоном при концентрации  $300 \text{ мг/м}^3$  в течение 5, 20 и 40 минут. Доза озона определялась как произведение концентрации озона в озono-воздушной смеси на время озонирования и составляла 1500, 6000 и  $12000 \text{ мг}\cdot\text{мин/м}^3$  соответственно. Семена проращивали в течение 14-ти суток. В течение всего периода проращивания определяли всхожесть семян, в завершение измеряли длину побегов и корней. Для каждого показателя считали биологический эффект, по сути, являющийся процентом к контролю.

Изучение эндофитной микробиоты у семян гороха проводили путем посева каждого отдельного семени на питательную среду (Мурасиге-Скуга) в пробирку. Посев семян проводился в ламинар-боксе при соблюдении правил асептики (Гусев, 2010). Проращивание проводили в течение 14-ти суток. Биологическая повторность составляла 100 семян для каждого варианта (ГОСТ 12038-38).

Полученные данные обработаны методом дисперсионного анализа с использованием программы Excel при 5 %-ном уровне значимости ( $P = 0,05$ ) (Гланц, 1999).

**Результаты и обсуждение.** Проведённые исследования выявили зависимость от времени озонирования, всхожести, морфометрических и микробиологических показателей. Наибольший эффект по всхожести семян наблюдали в первые 4 дня проращивания, затем эффект действия озона снижался (рис.1А). Так, при проращивании семян гороха на гидропонике, озонированных в течение 5 минут, на 2-й день наблюдается увеличение всхожести

примерно на 40% относительно контроля, на 3 и 4 день около 10% ( $P \leq 0,05$ ). На 5-й и последующие дни эффект не наблюдали ( $P \geq 0,05$ ). 20 минутное действие озоном на 2-й день усилило всхожесть почти на 100%, на 3-й около 40% и на 4-й порядка 30% относительно контроля ( $P \leq 0,05$ ). Воздействие озоном в течение 40 минут ускорило всхожесть на 2-й день примерно на 25%, а на 3-й порядка 5% ( $P \leq 0,05$ ). Далее эффект не наблюдался ( $P \geq 0,05$ ) (рис.1 А).



Р и с . 1. Влияние озона на динамику общей всхожесть семян гороха посевного в условиях гидропоники (А) и питательной смеси Мурасиге – Скуга (Б),

где 5, 20, 40– озонирование в течение соответствующего времени в минутах, БЭ – биологический эффект, % от контроля

Культивирование семян на питательной среде Мурасиге – Скуга отчётливо показало её ингибирующие действие на процессы прорастания по сравнению с гидропоникой (рис. 1 Б). Озонирование в течение 5 минут не оказало статистически значимых результатов ( $P \geq 0,05$ ). Воздействие в течение 20 и 40 минут имеет схожую динамику: не значительно увеличивает всхожесть через 1 неделю культивирования и примерно на 30% после второй недели роста ( $P \leq 0,05$ ).

В условиях питательной среды Мурасиге – Скуга изучали влияние озона на всхожесть здоровых семян (рис. 2) т.е. семян, не заражённых бактериями и микромицетами. Выявлено, что наиболее значимые результаты у растений озонированные в течение 20 минут.

Влияние озона на длину корней и побегов проростков, выращенных на гидропонике и питательной среде Мурасиге – Скуга показали не однозначные результаты (рис. 3). В первую неделю длина корней снижается при всех вариантах воздействия, однако наибольший ингибирующий эффект наблюдается при 40 минутном

озонировании. У растений, выращенных на гидропонике, длина побега при 20 минутном воздействии озоном немного выше, а при 5 и 40 минутном действии меньше контроля (рис. 3 А). Через 2 недели эксперимента значимый эффект наблюдается только у растений озонированных в течение 20 минут, в остальных случаях различия отсутствуют. Культивирование растений на питательной среде Мурасиге – Скуга в течение 1 недели показал стимулирующее действие на рост, как корней, так и побегов (рис. 3 Б). Однако через 2 недели наблюдается обратный эффект замедление роста по сравнению с контролем.

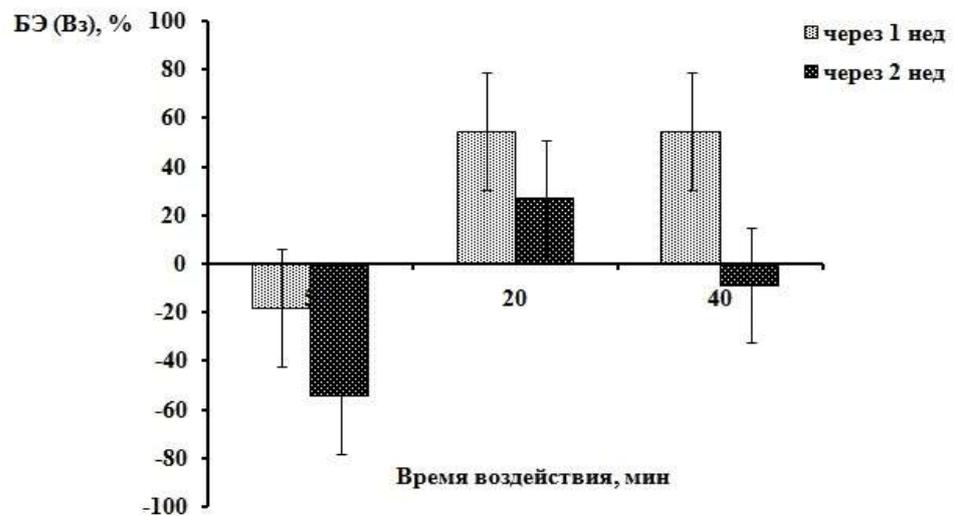


Рис. 2. Влияние озона на всхожесть здоровых семян гороха посевного в условиях питательной смеси Мурасиге – Скуга (Б), (обозначения см. рис. 1)

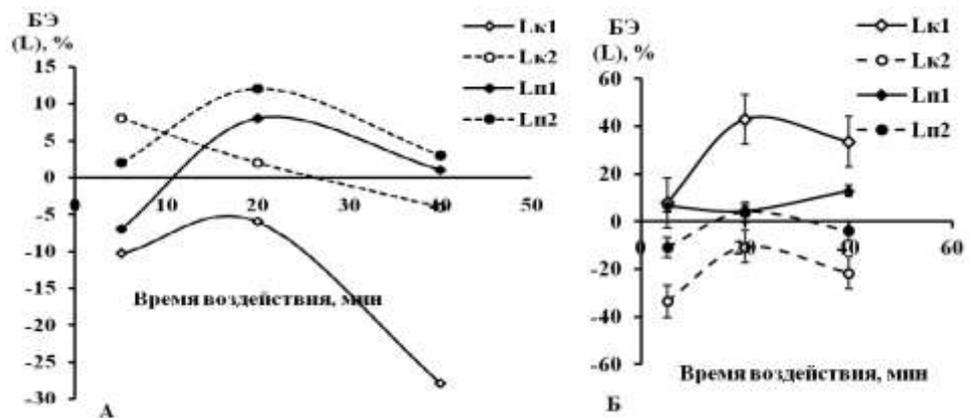
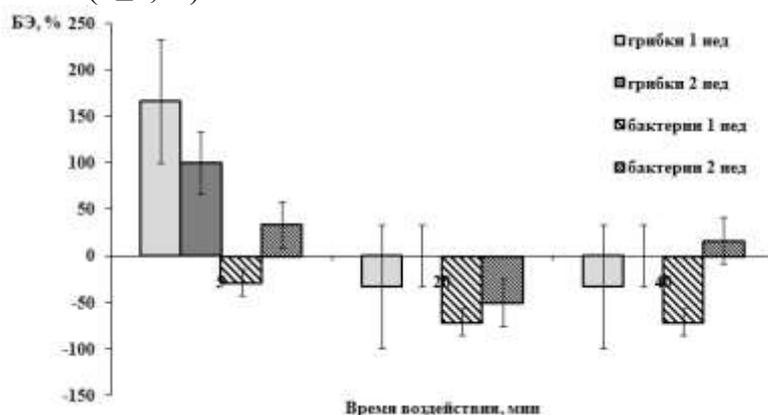


Рис. 3. Влияние озона на длину побега и корня у проростков гороха посевного в условиях гидропоники (А) и питательной смеси Мурасиге – Скуга (Б), (обозначения с. рис. 1)

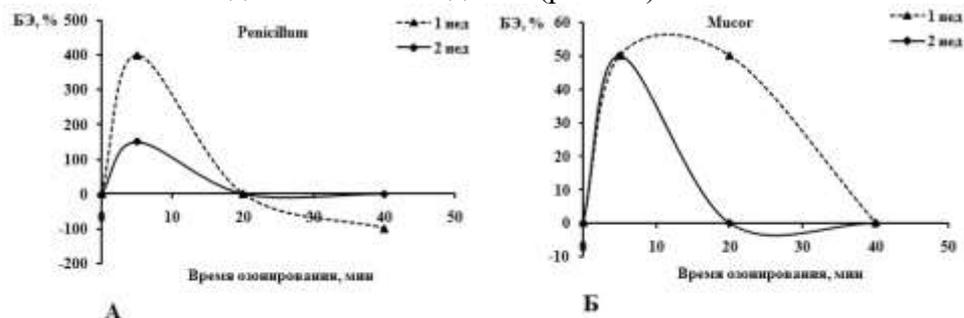
Исследования влияния озона на показатели заражённости проростков гороха выявили зависимость от времени озонирования и степени заражённости (рис. 4). Озонирование в течение 5 минут усиливает грибковое заражение в 1 и 2-ю неделю культивирования, заражённость бактериями в 1-ю неделю незначительно снижается, однако на 2-ю неделю становится выше контроля. Озонирование семян в течение 20 и 40 минут в общем показали снижение грибковой и бактериальной заражённости. Так, при 20 минутном воздействии отчётливо наблюдается статистически значимое снижение бактериальной заражённости на протяжении всего периода культивирования ( $P \leq 0,05$ ). Воздействие озоном в течение 40 минут чётко показало снижение только бактериальной микрофлоры в течение 1-й недели ( $P \leq 0,05$ ), другие параметры статистически значимо не отличаются ( $P \geq 0,05$ ).



Р и с . 4. Влияние озона на показатели зараженности проростков гороха посевного

Исследование качественного состава микромицетов зараженных образцов гороха, выращенного на питательной среде Мурасиге – Скуга показало наличие 2-х родов: *Pinicillum* и *Mucor*. Наибольшая степень заражённости двумя грибами наблюдается при 5 минутном воздействии (рис. 5). Так *Pinicillum* при 5 минутном озонировании проявляется в первую неделю на 400% больше, чем в контроле, через 2 недели примерно на 150% ( $P \leq 0,05$ ). Озонирование в течение 20 минут не показало статистически значимых отличий по степени заражённости *Pinicillum* ( $P \geq 0,05$ ). Воздействие озоном в течение 40 минут в первую неделю показало ингибирующий эффект на рост *Pinicillum*, почти на 100%, а через 2 недели статистически значимо не отличалось от контроля (рис 5 А). Озонирование показало меньшей эффект на рост *Mucor* по сравнению с *Pinicillum*. Так, 5 и 20 минутное воздействие активировало рост микромицета в первую

неделю культивирования примерно на 50% по отношению к контролю, 40 минутное воздействие не оказало значимого эффекта. Через 2 недели после 5-ти минутного озонирования количество заражённых пробирок было больше на 50% по отношению к контролю, а после 20 минут воздействия озоном сравнялось с контролем, 40 минутное озонирование через 2 недели не изменилось относительно недельного наблюдения (рис. 5Б).



Р и с . 5 . Влияние озона на заражённость проростков гороха посевного микромицетами рода *Penicillium* (А) и *Mucor* (Б)

Стимулирующее действие озона на показатели прорастания при обеих средах культивирования можно объяснить его действием на процессы катаболизма прорастающих семян в виду увеличения концентрации  $O_2$  в среде, который, в частности, увеличивает интенсивность дыхания (Полевой, 1989). В процессе дыхания образуется АТФ и другие макроэрги, их концентрация ускоряет процессы биосинтеза (Скулачёв, 2010; Биохимия, 2009) и как следствие скорость прорастания. Замедление всхожести на питательной среде Мурасиге – Скуга, по сравнению с гидропоникой, вероятно связано с особенностями среды культивирования, меньшей влажности, повышенным содержанием органических веществ, в том числе и фитогормонов, которые, по-видимому, в данной концентрации оказали ингибирующий эффект на скорость роста корней и проростков семян гороха.

Уменьшение длины корней и проростков, выращенных на гидропонике и питательной среде Мурасиге – Скуга, вероятно связано с особенностями взаимосвязи влияния концентрации  $O_2$  и  $O_2^-$  на процессы дыхания, транспорта и фотосинтеза.

Повышение заражённости гороха микромицетами, при 5 минутном озонировании вероятно связано с усилением метаболизма грибов, в связи с увеличением кислорода в среде (Беккер, 1988), что при условии профицита питательных веществ ускоряет рост мицелия и плодовых тел. Ингибирующее действие озона, при обработке в

течение 20 и 40 минут можно объяснить дезинфицирующим действием данного газа, т.е. большим количеством свободных радикалов, которые в первую очередь негативно сказываются на прорастании спор микровицетов и развитие колоний бактерий.

**Заключение.** Обработка озонем семян гороха показала эффективность в отношении повышения всхожести и ускорения процессов прорастания. Однако при повышении всхожести, длина проростков снижается. Неоднозначно показало воздействие озона и на поражение семян грибковой и бактериальной микрофлорой: эффект напрямую не зависел от длительности воздействия. Была выявлена оптимальная доза, при которой существенно повышалась всхожесть семян, и снижалось число пораженных инфекцией семян.

### **Список литературы**

- Беккер З.Э.* 1988. Физиология и биохимия грибов. М.: Изд. МГУ. 230 с.
- Гланц С.* 1999. Медико-биологическая статистика М.: Практика. 459 с.
- ГОСТ 12038-84.* 2011. Межгосударственный стандарт. семена сельскохозяйственных культур методы определения всхожести М.: Стандартинформ.
- Гусев М. В., Минеева Л. А.* 2010. Микробиология. 9-е изд. М.: Издательский центр «Академия». 464 с.
- Кубеев Е.И.* 2015. Повышение эффективности технологического процесса предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур за счёт совершенствования методов и технических средств нанесения искусственных оболочек: автореф. дисс. ... д-ра. техн. наук. СПб. 38 с.
- Некрасова Т.А.* 2011. Особенности перекисного окисления липидов и белков при аутоиммунном тиреоидите без и с минимальной тиреоидной дисфункцией // Клиническая и экспериментальная тиреодология. Т. 7. С. 38-43.
- Можаев Л. В.* 2004. Озонирование в водоподготовке. История и практика применения. Сантехника, отопление, кондиционирование (СОК). [Электрон. ресурс]. Режим доступа: <http://www.c-o-k.ru/articles/>
- Полевой В.В.* 1989. Физиология растений. М.: Высшая школа. 464 с.
- Программа по развитию АПК Нижегородской области.* 2013 // Агрорынок [Электрон. ресурс]. Режим доступа: <http://www.agroinok.ru>
- Скулачев В.П., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О.* 2010. Мембранная биоэнергетика. М.: издательство МГУ. 365 с.
- Троцкая Т.П.* 2008. Озонная технология сушки зерна // Пищевая промышленность: наука и технологии. Т. 2. № 2. С. 20-25.
- Bailly Ch., Nayat El-Maarouf-Bouteau, Françoise Corbineau.* 2008 From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology C. R. Biologies 331 P. 806-814.
- Klaus Apel, Heribert Hirt.* 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. V. 55. P. 373-399.
- Li-Juan Quan, Bo Zhang, Wei-Wei Shi and Hong-Yu Li.* 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species // Network Journal of Integrative Plant Biology. V. 50 (1). P. 2-18.

*Tausz M., Olszyk D.M., Monschein S., Tingey D.T.* 2004. Combined effects of CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on antioxidative and photoprotective defense systems in needles of ponderosa pine // *Biol. plant.* V. 48 № 4. P. 543-548.

*Veselin D.P., Frank Van Breusegem.* 2012. Hydrogen peroxide a central hub for information flow in plant cells // *AoB PLANTS.* P. 1-13.

## **EFFECT OF OZONE ON MORPHOMETRIC INDICATORS AND MICROBIOTICS OF SEEDS AND GROWTHS OF *PISUM SATIVUM***

**A.A. Gavrilova, S.S. Tarasov, O.A. Sharabayeva**

Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, Nizhny Novgorod

The effect of the ozone-air mixture at a concentration of 300 mg / m<sup>3</sup> for 5, 20 and 40 minutes on the soaked seeds of the pea seed is studied. The following indicators were used: germination, germination energy, length, and mass of roots and shoots, as well as the degree of infection with microorganisms. Soaking seeds for 24 hours, exposure to an ozone-air mixture of appropriate concentration, growing seedlings in hydroponics, planting ozonated seeds on the Murashige-Skoog nutrient medium, were applied. Ozon stimulates the overall germination and germination energy, as well as reduces the fungal contamination.

**Keywords:** *ozone, presowing seed treatment, active oxygen species (ROS), morphometry, microflora.*

### *Об авторах:*

ГАВРИЛОВА Анна Александровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физика и прикладная механика, ФГБОУ ВО Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97; e-mail: anna-gavrilova-65@mail.ru.

ТАРАСОВ Сергей Сергеевич – старший преподаватель кафедры ботаника, физиология и защита растений, ФГБОУ ВО Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97; e-mail: tarasov\_ss@mail.ru.

ШАРАБАЕВА Ольга Александровна – старший преподаватель кафедры ботаника, физиология и защита растений, ФГБОУ ВО Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97; e-mail: sharabaeva@list.ru.

Гаврилова А.А. Влияние озона на морфометрические показатели и микробиоту семян и проростков гороха посевного (*Pisum sativum*) / А.А. Гаврилова, С.С. Тарасов, О.А. Шарабаева // *Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология.* 2018. № 3. С. 83-90.