

УДК 631.53.027.2:577.152.311:581.142:633.853.494

Влияние предпосевной обработки препаратом «Виал-ТТ» на активность липазы в проростках озимого рапса

Н.И. ДРОЗДОВА, М.Н. ГАТАЛЬСКАЯ

В условиях лабораторного эксперимента изучено влияние пестицида «Виал-ТТ», включенного в государственный реестр средств защиты растений на метаболическую активность проростков озимого рапса сорта «Зорный». Установлено, что липолитическая активность имеет общую тенденцию к снижению как в контрольных, так и в опытных группах, обработанных препаратом в концентрации 0,5 мл/кг и 1 мл/кг от четвертых до одиннадцатых суток проращивания, что может быть связано с уменьшением запасов липидов при прорастании. Для активности липазы в опытных группах маслосемян рапса, обработанных препаратом «Виал-ТТ», и контрольных группах на четвертые сутки прорастания статистически значимых различий не установлено.

Ключевые слова: фунгициды, липазы, ферментативная активность, проростки озимого рапса, динамика липолитической активности.

In a laboratory experiment, the effect of the pesticide «Vial-TT», included in the state register of plant protection products on the metabolic activity of seedlings of winter rape of the variety «Zorny» was studied. It was found that lipolytic activity has a general tendency to decrease both in the control and in the experimental groups treated with the drug at a concentration of 0,5 ml/kg and 1 ml/kg from the fourth to eleventh days of germination, which may be associated with a decrease in lipid reserves during germination. For lipase activity in the experimental groups of oilseed rape treated with the drug «Vial-TT» and the control groups on the fourth day of germination, no statistically significant differences were found.

Keywords: fungicides, lipases, enzymatic activity, seedlings of winter rape, dynamics of lipolytic activity.

Введение. Озимый рапс – высокопродуктивная культура, которая является одной из перспективных масличных культур в мировом земледелии. Семена рапса содержат около 40 %–45 % масла и 22 %–29 % протеина. По содержанию белка рапс более чем в три раза ценнее кормового ячменя [1].

Рапс является важнейшей технической культурой, имеющей большое народнохозяйственное значение. Интерес аграриев к рапсу объясняется его хорошей приспособляемостью к климату и высокой продуктивностью, а также постоянно растущей потребностью в высокобелковых кормах и растительных маслах [2].

Рапс получил широкое распространение в Республике Беларусь и выращивается практически в каждом хозяйстве. В 2018 г. посевные площади под озимым рапсом составляли 381,7 тыс. га. Сегодня площадь, занимаемая озимым рапсом в Республике Беларусь, шестая по величине среди посевов этой культуры в Европе. Несмотря на большую значимость рапса для экономики Беларуси, потенциал его используется еще недостаточно. Урожайность данной культуры в производстве чаще всего достигает 10–15 ц/га, что составляет не более 30 % от его биологической продуктивности. В 2012 г. средняя урожайность маслосемян озимого рапса в республике составляла 20,7 ц/га. В Гродненской области было получено 22,0 ц/га маслосемян против 16,1 ц/га в 2011 г. [1].

За прошедшую пятилетку впервые в Беларуси была разработана научная основа селекции озимого и ярового рапса, создан исходный материал, в том числе зимостойких сортов озимого и стрессоустойчивых сортов ярового рапса. Природа вносит свои коррективы в производство масличных культур, так как в последние годы складываются крайне неблагоприятные погодные условия в период сева и в осенний период роста и развития растений озимого рапса [2]. Несмотря на то, что в целом природно-климатические условия Беларуси являются благоприятными для выращивания данной культуры, но они способствуют так же развитию вредителей и патогенов, снижающих урожайность рапса [3].

Рапс повреждается многими видами вредителей и заболеваний, поэтому требует умелой защиты, ориентации всей технологии выращивания на создание оптимальных условий для более полной реализации его потенциала [4]. Перед посевом семена озимого рапса обрабатывают препаратами, которые внесены в Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь. В настоящее время к числу разрешенных относятся препараты, содержащие тебуконазол и тиабендазол, например «Виал-ТТ», обладающий фунгицидными свойствами. Препарат «Виал-ТТ» – высокоэффективный системный двухкомпонентный протравитель широкого спектра действия. Действующими веществами, входящими в состав препарата, являются тиабендазол (80 г/л), тебуконазол (60 г/л) и антистрессовые компоненты. Тебуконазол относится к химическому классу триазолов, отличается более высокой растворимостью и подвижностью, обладает профилактическим и лечащим системным действием. Тиабендазол – активный ингредиент из класса бензимидазолов, слабо растворим, менее подвижен, обладает защитным и лечащим системным действием.

Несмотря на достаточно широкий спектр разрешенных к применению препаратов, их влияние на метаболические процессы в клетках растений, на рост и развитие проростков в настоящее время остается мало изученным.

Целью работы являлось изучение влияния препарата «Виал-ТТ», используемого для предпосевной обработки на липолитическую активность в проростках озимого рапса, которая играет важную роль в энергообеспечении процессов прорастания семян масличных культур.

Объект исследования: озимый рапс сорта «Зорный», полученный методом межсортовой гибридизации сортов WW 995 x Librador x 3005/88 и последующего индивидуально-семейного отбора. Сорт включен в Государственный реестр в 2007 г. [5].

Предметом исследования являлась липолитическая активность маслосемян озимого рапса как при различных режимах обработки препаратом «Виал-ТТ», так и в зависимости от длительности проращивания.

Так как основным запасным питательным веществом в семенах рапса являются липиды, следовательно, активность липазы оказывает влияние на скорость их мобилизации, гидролиза, что обеспечивает нормальные условия прорастания и развития проростков.

Липазы (триацилглицеролацилгидролаза, стеапсин, трибутираза, липаза триглицеридов КФ 3.1.1.3) – ферменты, катализирующие гидролитическое расщепление триацилглицеринов до глицерина и жирных кислот, представляют собой липопротеины с неорганическим кофактором – ионами кальция [6]. Так как триацилглицеролы нерастворимы в воде, липазы действуют на границе раздела фаз «вода–липиды» и являются липопротеинами с гидрофильно-гидрофобными группами. Полный гидролиз триацилглицеролов происходит ступенчато и катализируется тремя липазами. Первая из них гидролизует 1,3-связи – триацилглицероллипаза. Затем вступает в действие диацилглицероллипаза и, наконец, моноацилглицероллипаза, катализирующая гидролиз сложноэфирной связи в моноацилглицеролах. Локализация указанных липаз в органоидах клетки различна. Триацилглицероллипаза локализована в мембране липидных сферосом. Липаза, гидролизующая моноацилглицеролы, локализована в мембранах глиоксисом прорастающих семян. Установлено, что указанные липазы отличаются не только по характеру субстрата, но и по оптимуму pH и температуре максимальной активности [7].

Способность липаз функционировать на поверхности раздела фаз «липид–вода» подразумевает, что фермент взаимодействует с полярными и неполярными молекулами. Следует отметить, что взаимодействие с неполярными молекулами может вызвать конформационные изменения в структуре фермента, вследствие чего появляется каталитическая активность. Наряду с вышесказанным установлено, что чем выше степень диспергирования субстрата, тем быстрее идет липолиз. Вероятно, это связано с явлением сорбции фермента на поверхности субстрата. Считается, что именно этот процесс и является первым актом ферментативного липолиза [8].

С целью изучения влияния режимов предпосевной обработки, маслосемена озимого рапса обрабатывали препаратом фунгицидного действия «Виал-ТТ» в концентрациях 0,5 мл/кг (допустимый уровень, рекомендован производителем препарата – 1 ДУ) и 1 мл/кг (концентрация в два раза превышающая рекомендованную – 2 ДУ). Срок ожидания перед посевом семян в условиях лабораторного опыта составлял 1 час, 7 суток и 14 суток с момента обработки.

Для эксперимента были сформированы контрольные и опытные группы, каждая из которых содержала по 5 г маслосемян. Суммарный объем дистиллированной воды, добавляемой ко всем экспериментальным группам озимого рапса, составлял 30 мл при 4 сутках проращивания и 90 мл при 11 сутках проращивания. Проростки использовали для определения активности липазы титриметрическим методом [9].

Для изучения динамики изменения активности липазы в проростках рапса активность ферментов определялась на 4 и 11 сутки прорастания семян.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследований проанализировано изменение активности липазы под действием различных концентраций препарата для предпосевной обработки «Виал-ТТ» в проростках озимого рапса сорта «Зорный». Данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Липолитическая активность проростков озимого рапса в условиях эксперимента

в мг гидроксида калия, затраченного на титрование образующихся за 1 час при гидролизе жирных кислот, в расчете на 1 г растительной массы

Условия эксперимента		Активность липаз	
		на 4 сутки проращивания	на 11 сутки проращивания
Контроль	Период ожидания 1 час после про- травливания	0,924 ± 0,036	0,629 ± 0,066
1 ДУ		0,951 ± 0,028	0,780 ± 0,056
2 ДУ		0,940 ± 0,065	0,832 ± 0,025
Контроль	Период ожидания 7 суток после про- травливания	0,927 ± 0,043	0,594 ± 0,025
1 ДУ		0,905 ± 0,054	0,625 ± 0,032
2 ДУ		0,903 ± 0,049	0,624 ± 0,034
Контроль	Период ожидания 14 суток после про- травливания	0,881 ± 0,093	0,594 ± 0,027
1 ДУ		0,916 ± 0,050	0,618 ± 0,047
2 ДУ		0,895 ± 0,065	0,587 ± 0,060

В ходе изучения активности липазы в зависимости от сроков воздействия различных концентраций препарата «Виал-ТТ» установлено, что ферментативная активность четырехдневных проростков во всех вариантах опыта находилась в диапазоне 0,881–0,951 мг гидроксида калия, затраченного на титрование образующихся за 1 час при гидролизе жирных кислот в расчете на 1 г растительной массы. Статистически значимых различий между опытными группами не установлено, что подтверждается результатами однофакторного дисперсионного анализа. Показатели активности липазы при обработке препаратом «Виал-ТТ» в концентрациях, соответствующих 1 и 2 ДУ, достоверно не различимы с активностью липазы в контроле (рисунок 1).

Липолитическая активность проростков озимого рапса была определена так же на 11 сутки прорастания. Установлено, что с увеличением концентрации препарата для предпосевной обработки от 1 ДУ до 2 ДУ активность липазы в проростках рапса, обработанных непосредственно за 1 час до проращивания, увеличивалась по сравнению с контролем на 24 % и 32 % соответственно. Увеличение активности липазы в проростках семян, обработанных за 7 дней до проращивания, составило 5 % по сравнению с контролем независимо от концентрации фунгицида. В вариантах опыта с предварительной обработкой семян озимого рапса с периодом ожидания 14 суток липолитическая активность опытных групп находилась на одном уровне с контрольной группой проростков.

Достоверность наблюдаемых различий была подтверждена статистически с помощью однофакторного дисперсионного анализа, результаты которого представлены на рисунке 2.

С возрастом периода ожидания после обработки семян озимого рапса эффект увеличения липолитической активности угасает, что требует дополнительного экспериментального изучения для объяснения причин и механизмов.

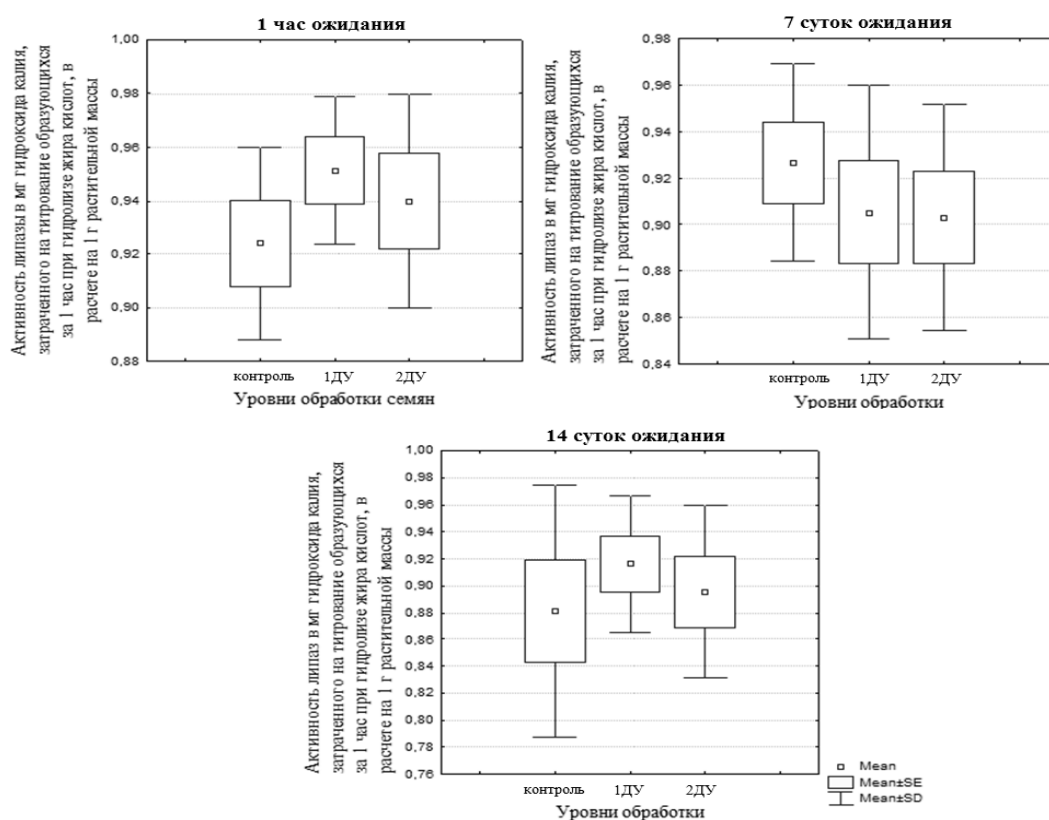


Рисунок 1 – Изменение активности липазы четырехдневных проростков озимого рапса в условиях эксперимента

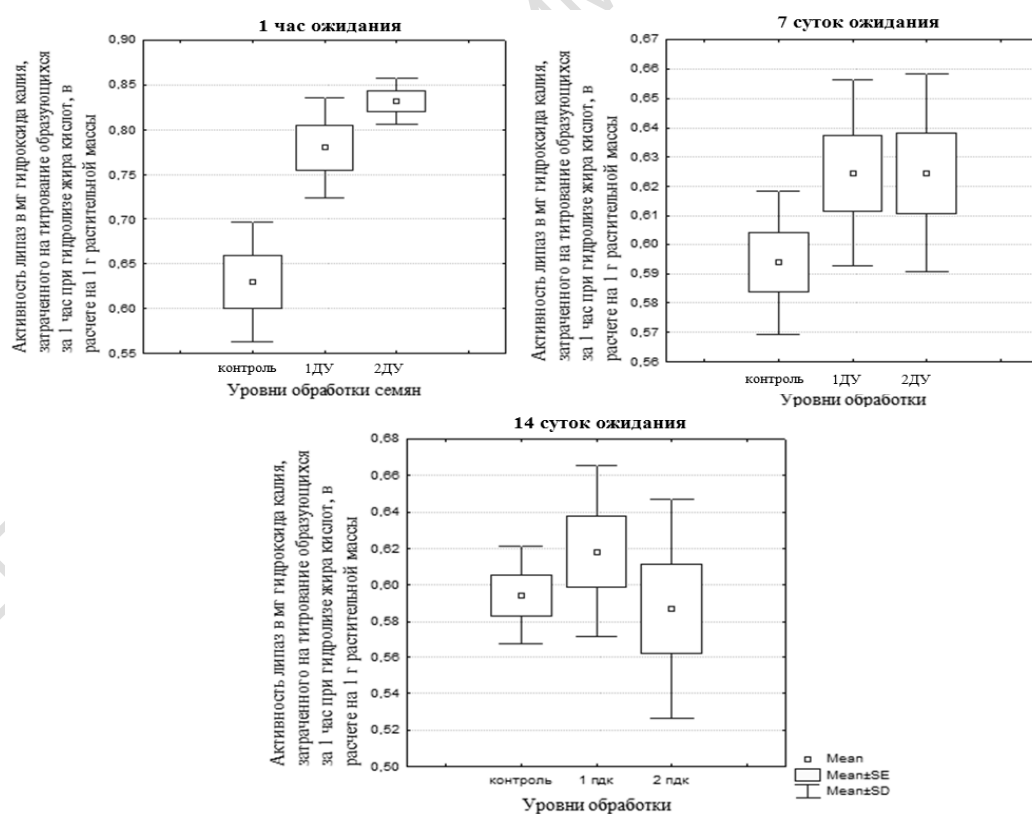


Рисунок 2 – Изменение активности липазы одиннадцатидневных проростков озимого рапса в условиях эксперимента

Определение липолитической активности маслосемян на 4 и 11 сутки проращивания позволило выявить определенную динамику. Установлено, что активность липазы в про-

ростках в контрольных вариантах опыта без предварительной обработки фунгицидным на 11 сутки проращивания снижалась в среднем на 33 % по сравнению с активностью фермента на 4 сутки проращивания.

В вариантах опыта с обработкой семян рапса препаратом «Виал-ТТ» в концентрациях 1 и 2 ДУ непосредственно перед проращиванием активность липазы на 11 сутки снизилась соответственно на 17 % и 11 % по сравнению с аналогичными показателями на 4 сутки эксперимента. Показатели активности ферментов при сроке ожидания после обработки семян до проращивания в течение 7 дней снижались на 30 % во всех вариантах опыта. В условиях обработки семян с периодом ожидания 14 дней липолитическая активность на 11 сутки прорастания по сравнению с 4-дневным периодом снизилась в среднем на 33 %, включая и контрольные варианты опыта. Однофакторный дисперсионный анализ подтверждает достоверность выявленных в эксперименте различий. Результаты статистической обработки данных представлены на рисунке 3.

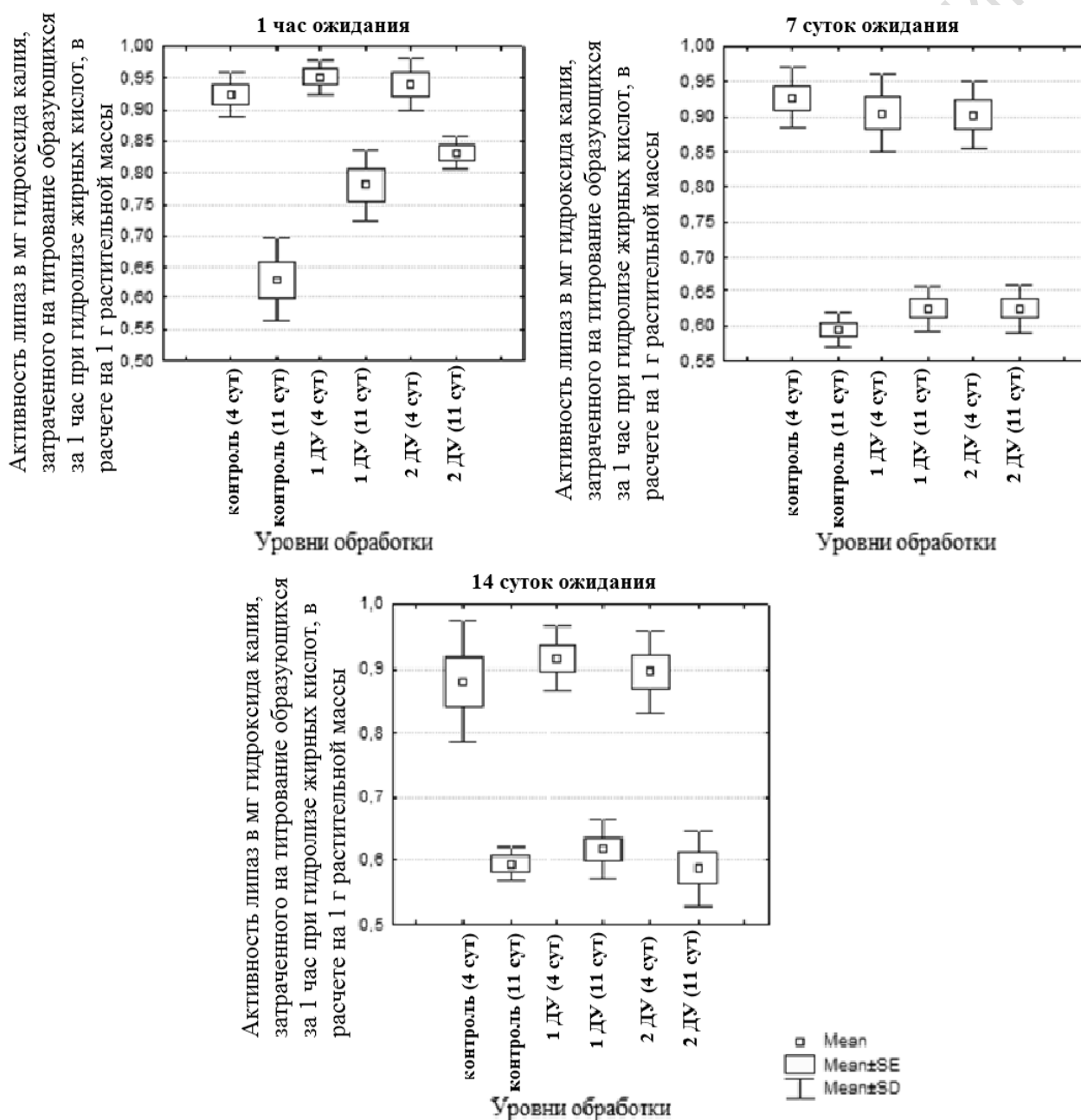


Рисунок 3 – Динамика изменения активности липазы проростков озимого рапса при проращивании

Таким образом, в условиях лабораторного эксперимента установлена сходная тенденция снижения активности липазы в ходе развития проростков озимого рапса как в контрольных вариантах опыта, так и при обработке препаратом «Виал-ТТ» на 11 сутки.

Заключение. В условиях лабораторного эксперимента изучено влияние пестицида «Виал-ТТ», включенного в государственный реестр средств защиты растений, на метаболическую активность проростков озимого рапса сорта «Зорный». Установлено, что липолитическая активность имеет общую тенденцию к снижению как в контрольных, так и в опытных группах от четвертых до одиннадцатых суток прорастания во всех вариантах опыта, что может быть связано с уменьшением концентрации субстрата, т. е. со снижением запасов липидов при прорастании.

Между опытными группами маслосемян рапса, обработанных препаратом «Виал-ТТ» в концентрации 0,5 мл/кг и 1 мл/кг, а так же контрольными группами на четвертые сутки прорастания независимо от сроков ожидания статистически значимых различий не установлено. На одиннадцатые сутки прорастания активность липазы в проростках рапса достоверно возросла при обработке препаратом «Виал-ТТ» по сравнению с контролем. Максимальные различия наблюдались при сокращении срока ожидания между посевом и обработкой до 1 часа.

Таким образом, полученные экспериментальные данные позволяют расширить представления о влиянии препаратов пестицидного действия на метаболические процессы в прорастающих маслосеменах озимого рапса.

Литература

1. Смоглей, И.Н. Необходимость совершенствования системы применения удобрений под озимый рапс в сельскохозяйственных организациях / И.Н. Смоглей, С.В. Петровский, И.В. Шибанова // *Агрономия, защита растений, зоотехния, ветеринария, общественные науки: материалы XIV Международной студенческой научной конференции.* – Гродно : УО «ГГАУ», 2019. – С. 77–80.
2. Котьяк, Т.М. Сравнительная оценка экономической эффективности производства озимого и ярового рапса в Республике Беларусь / Т.М. Котьяк // *Современные технологии сельскохозяйственного производства: Международная научно-практич. конф.* – Гродно : УО «ГГАУ», 2017. – С. 104–105.
3. Чуча, В.А. Эффективность применения инсектицидов Ф. Байер против рапсового цветоеда в посевах озимого рапса / В.А. Чуча, С.Н. Бейтюк // *Защита растений: сб. научн. трудов по Материалам XX Международной студенческой научной конференции.* – Гродно : УО «ГГАУ», 2019. – С. 46–48.
4. Вафина, Э.Ф. Реакция ярового рапса на предпосевную обработку семян инсектицидом и срок посева формирования урожайности / Э.Ф. Вафина, И.Ш. Фатыхов // *Вести казанского государственного аграрного университета.* – 2018. – Т. 13, № 4 (51). – С. 10–15.
5. Озимый рапс [Электронный ресурс]. – Октябрь 2011. – Режим доступа : https://docviewer.yandex.by/view/362145248/?*=6rKRp8ijW6piDJtrdQqq3BPGx%2B97InVybcI6Imh0dNA6Ly9zb3J0dGVzdC5ieS9yYXBzLW96aW15eS5w. – Дата доступа : 04.02.2019.
6. Никитенко, Н.И. Методические особенности определения активности липаз в семенах рапса / Н.И. Никитенко, В.Н. Леонтьев, В.С. Болтовский // *Химия, технология органических веществ и биотехнология.* – 2011. – № 4 (142). – С. 190–193.
7. Рахимов, М.М. Изменение активности липолитических ферментов при хранении и переработке семян хлопчатника / М.М. Рахимов, А.Х. Атауллаев, А.Х. Абдумаликов, Н.Р. Джамбаев // *Масложировая промышленность.* – 1976. – № 11. – С. 8–10.
8. Characteristics of lipase isolated from coconut (*Cocos nucifera* linn) seed under different nutrient treatments / В.О. Ejedegba [et al.] // *African Journal of Biotechnology.* – 2007. – Vol. 6 (6). – P. 723–727.
9. Новиков, Н.Н. Лабораторный практикум по биохимии растений: учеб. пособ. / Н.Н. Новиков, Т.В. Таразанова. – М. : Издательство РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2012. – 97 с.