

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮТЕНА В ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННОЙ ПО НОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФИТОИНДУКТОРОВ

Паша Ю. А., Благая А. В., Омельчук С. Т., Пельо И. М., Пономарчук В. В.*

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

*КУ Мариупольский технический лицей, г. Мариуполь, Украина

Ключевые слова: паранодуляции, гигиеническая оценка, глютен (клейковина).

Резюме: в ходе проведенных лабораторных и полевых исследований было оценено содержание глютена в зерне пшеницы, выращенной при помощи новой методики повышения урожайности злаков за счет образования на корневой системе новых азотфиксирующих структур (паранодуляций). Методика позволяет полностью отказаться от использования нитратов, снизить расход пестицидов, фосфорных и калийных удобрений, а полученный урожай имел сопоставимые со стандартно выращенным урожаем качественные и количественные характеристики.

Resume: gluten content in wheat grains grown using the new method of increasing the yield of cereals due to the formation of new nitrogen-fixing structures (para-nodules) on the root system was evaluated in our laboratory and field studies.

The method allows abandoning completely the use of nitrates, reducing pesticides, phosphate and potash fertilizers application rates, and grown crops had comparable to regular crops qualitative and quantitative characteristics.

Актуальность. Пшеница (*Triticum*) – третья по объему выращивания культура в мире (после кукурузы и риса). Достижение высоких количественных и качественных показателей урожая – основная задача аграриев, однако используемые пестициды, агрохимикаты и минеральные удобрения оказывают негативное влияние, как на окружающую среду, так и на потребителей готовой продукции.

Из всех видов удобрений, минеральные азотные удобрения (нитраты), подвергаются наибольшему внешнему влиянию. Причинами этого являются процессы нитрификации и денитрификации, а также высокая растворимость азотных удобрений. В результате коэффициент использования азотных удобрений растениями злаковых культур не превышает 50%, а неусвоенные нитраты могут вызывать эвтрофикацию близлежащих водоемов. В ходе денитрификации образуется N_2O , являющийся парниковым газом. Минеральные соединения азота, усвоенные растением из почвы, но не трансформированные в органические формы (аминокислоты, белки, витамины, и т.д.), являются токсичными соединениями и могут вызывать метгемоглобинемию, быть одним из факторов канцерогенеза (нитрозамины).

Пестициды и агрохимикаты, используемые агропромышленностью в настоящий момент, хотя и обладают меньшей токсичностью, чем их предшественники первых поколений, все еще могут нанести непоправимый вред здоровью человека, особенно – младшего и пожилого возрастов [1].

Исходя из вышеописанного, становится очевидной необходимость скорейшего внедрения в агропроизводство методик, не оказывающих столь серьезного деструктивного воздействия на окружающую среду и организм человека, являющего

потребителем готовой агропродукции [2], но при этом сохраняя хорошие нутриентные показатели качества.

Цель: в лабораторных и полевых условиях исследовать влияние метода повышения урожайности за счет образования на корневой системе азотфиксирующих структур (паранодуляций) на хозяйственно-ценный показатель содержания глютена в зерне пшеницы, выращенной с использованием такой методики.

Задачи: 1) разработать и апробировать методику повышения урожайности за счет образования паранодуляций на корневой системе растений семейства *Poaceae* в лабораторных условиях; 2) в условиях полевых испытаний исследовать влияние разработанной методики на растения семейства *Poaceae*, принадлежащих к разным видам (*Triticum aestivum*, *Triticum durum*) и имеющих разные циклы развития (озимые/яровые); 3) провести квалитетический анализ полученного урожая по показателю содержания глютена (клейковины); 4) оценить полученные результаты.

Материалы и методы:

Для разработки, апробации и изучения метода в лабораторных условиях были использованы семенной материал и проростки Пшеницы мягкой яровой (*T. aestivum*) сорта «Элегия мироновская», Пшеницы твердой яровой (*T. durum*) сортов «Харьковская 39». В качестве индуцирующих агентов были использованы 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота и 6N-фурфуриладенин (кинетин, фитогормон класса цитокининов). Индуцирующие агенты были использованы в форме реактивов с чистотой 99%. Концентрация готового рабочего раствора, которым обрабатывались растения для исследований, составляла 100 мг/л для 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 50 мг/л для кинетина.

В качестве симбиотического азотфиксатора была использована монокультура *A. chroococcum*, являющегося свободноживущим diaзотрофом, в форме готового биопрепарата на торфяном субстрате. Показатель КОЕ биопрепарата составлял $1,0 \times 10^9$, для приготовления рабочего раствора, которым обрабатывались растения исследуемых групп, 100 мл биопрепарата разводились в 1 л воды.

Для исследования метода в условиях полевых испытаний были использованы семена, проростки и растения Пшеницы яровой мягкой (*T. aestivum*) сорта «Элегия мироновская», Пшеницы озимой мягкой (*T. aestivum*) сорта «Богдана».

В качестве индуцирующих агентов были использованы 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота и кинетин. 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота была использована в форме 2-этилгексилового эфира с концентрацией 850 г/л (554 г/л в пересчете на кислотный эквивалент эфира), кинетин – в форме реактива с чистотой 99%.

В качестве симбиотического азотфиксатора были использованы штаммы *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Lactobacillus*, *Bacillus* в форме готового биопрепарата в жидкой форме. Показатель КОЕ биопрепарата составлял $1,0-1,5 \times 10^9$.

Для измерения pH использовался анализатор почвы АМТАСТ (АТМ-300).

Экспериментальная структура исследования включала две части: лабораторную и полевую. Результаты исследования фиксировались при помощи микро- и макрофотографирования цифровыми камерами «Canon PC 1354», «Sony Xperia Z», «Sony Xperia Z5» «Nokia lumia 920», а также цифровыми микроскопами «Sigeta J500» та «DEM200».

Исследуемые семена для лабораторной части (по 32 каждого сорта) высаживались в подготовленные пластиковые ящики размером 50×20×15см. Для дренажа на дне ящиков размещался слой керамзита. Семена высаживались в соответствующих ящиках в лунки глубиной около 4 сантиметров и обильно поливались. После появления у растения 2-4 листков проводилась одновременная обработка индуцирующими агентами и суспензией азотфиксатора (с расходной нормой жидкости – 1 л для каждой группы).

Для исследований были проведены испытания в трех сериях, исследуемые семена высаживались следующим образом:

Обработка Тип семян	Контроль (необработанные растения)	2,4-Д и диазотрофы	Кинетин и диазотрофы	Кинетин, 2,4-Д и диазотрофы
«Элегия мироновская»	Ящик №1	Ящик №2	Ящик №3	Ящик №4
«Харьковская 39»	Ящик №5	Ящик №6	Ящик №7	Ящик №8

В течение всего периода исследования производились замеры рН почвы.

В качестве материала для полевого исследования использовалось по 4,5 миллиона семян на 1 гектар Пшеницы яровой мягкой (*T. aestivum*) сорта «Элегия мироновская», Пшеницы озимой мягкой (*T. aestivum*) сорта «Богдана», 4 миллиона семян на 1 гектар.

Для исследования семена высаживались с соблюдением сроков высева следующим способом: Пшеница яровая мягкая (*T. aestivum*) сорта «Элегия мироновская» - 2 гектара, Пшеница озимая мягкая (*T. aestivum*) сорта «Богдана» - 2 гектара.

В течение всего периода исследования проводились замеры рН почвы.

После посева проводилась обработка растений в соответствии с фазами развития растений. Первая обработка проводилась спустя 10 дней после появления всходов и включала в себя одновременное внесение индуцирующих агентов и симбиотических diaзотрофов-мутуалистов. Расход индуцирующих агентов на 1 гектар составил 50 г для кинетина (в порошковой форме с концентрацией 99%) и 0,5 л для 2,4-Д в форме 2-этилгексилового эфира (в жидкой форме с концентрацией 850 г/л). Расход симбиотических азотфиксаторов-мутуалистов в форме готового биопрепарата составил 2,5 л/га. Расход рабочей жидкости на 1 гектар составил 300 л.

Вторая обработка производилась спустя 6 недель после высадки растений для яровых культур и спустя 5 недель после выхода растений из фазы зимнего покоя для озимых. Вторая обработка включала в себя внесение азотфиксатора с расходом препарата 2,5 л/га (расход рабочего раствора 300 л/га).

При проведении исследований в полевых условиях исследуемые группы растений не удобрялись минеральными азотными удобрениями (селитра, карбамид и т.д.), а норма расхода калийных и фосфатных удобрения была снижена на $\frac{1}{3}$. Помимо этого, исследуемые группы растений не обрабатывались средствами защиты растений от вредителей (инсектициды), а норма расхода фунгицидов и гербицидов была снижена вдвое.

После получения урожая было проведено его взвешивание, первичная оценка, а затем – квалитетический анализ содержания глютенa по методике стандарта

ISO 21415-2 Wheat and wheat flour – Gluten content Part 2: Determination of wet gluten and gluten index by mechanical means. В течение всего периода исследований проводились периодические изъятия проб растений для первичной оценки внешнего вида и последующего микрофотографирования корневой системы. Полученные данные были обработаны с помощью методов математической статистики (в т.ч. критерий U-критерия Манна — Уитни и t-критерия Стьюдента).

Результаты и их обсуждение:

В течение всего периода испытаний было установлено, что кислотность почв и в лабораторной части, и в полевой части эксперимента, находилась в оптимальных пределах – от 5,5 до 7.

Информация, полученная в ходе обработки данных, показала достоверное повышение длины зеленой части растения, а также количества боковых и придаточных корней в группах, обработанных одновременно 2,4-Д, кинетином и суспензией азотфиксатора.

В ходе визуального осмотра корневой системы растений, обработанных с использованием только 2,4-Д были обнаружены твердые новообразования сферической формы. В то же время, длина зеленой части растения, а также количество боковых и придаточных корней были ниже, чем у групп, обработанных одновременно 2,4-Д, кинетином и суспензией азотфиксатора.

В тех же группах, где обработка проводилась одновременно 2,4-Д, кинетином и суспензией азотфиксатора, корневая система претерпела значительные изменения и отличалась от других групп не только по количеству боковых и придаточных корней. На поверхности большей части корней любых порядков ветвления были обнаружены новообразования, по структуре идентичные волоскам на всасывающей зоне корня. При этом новообразованные структуры покрывали корни любых порядков ветвления на 70-80% площади корней.

После завершения полевой части был собран урожай, по количественным характеристикам не уступающий урожаю, собранному с полей, на которых применялись стандартные методы, а по качественным характеристикам – превосходящий таковой.

С собранного урожая был проведен отбор образцов по стандартной методике и полученные образцы были отправлены в лабораторию для квалитетического анализа.

Гигиеническая оценка квалитетического анализа полученного урожая яровой пшеницы показала, что зерно полученного урожая по качественным характеристикам превышает нормативы ГОСТ для зерна первой категории. Полученный урожай зерна содержит 29,3% сырой клейковины, что отвечает норме для зерна первой категории (не менее 28,0%). Качественный анализ показал, что клейковина относится к высшей категории качества.

Клейковина (глютен) является одним из основных запасующих веществ у *Роасеае* и определяет хлебопекарские качества муки. Несмотря на то, что примерно у 1% населения встречаются проблемы, связанные с непереносимостью глютенa (целиакия), клейковина является необходимой составляющей рациона человека, так как безглютеновая диета потенциально может приводить к гипергликемии и гиперлипидемии, к дефициту микронутриентов и волокон, увеличивать содержание

жиров в рационе [4]. Таким образом, с позиции гигиены питания использование метода является полностью оправданным.

В ходе лабораторных анализов полученного урожая не было обнаружено зерен, пораженных грибковыми заболеваниями (головней, фузариозом), следовательно, новая методика обладает протекторным эффектом в отношении культурных растений (т.к. норма расхода фунгицидов была уменьшена вдвое).

Выводы: 1. В ходе исследования была разработана и апробирована эффективная, универсальная и экологически безопасная методика повышения урожайности за счет образования паранодуляций на корневой системе растений семейства *Poaceae* в лабораторных и полевых условиях; 2. Были проведены квалитетические анализы содержания глютена в зерне полученного урожая, которые показали, что по качеству готовая продукция превосходит таковую, получаемую при использовании стандартных методов (с применением минеральных удобрений, стимуляторов роста и др. 2. При использовании нашего метода иммунные характеристики растения превосходят таковые для продукции, при выращивании которой использовались стандартные методики (пестициды и др. средства защиты растений).

Литература:

1. Медведев С.С. Физиология растений. – СПб.: БХВ-Петербург, 2012. – 512 с.
2. Садыков Б.Ф. Биологическая азотфиксация в агроценозах. — Уфа: Изд-во БНЦ УрО АН СССР, 1989. – С. 31.
3. Costacurta A., Vanderleyden J. Synthesis of phytohormones by plant-association bacteria // Crit. Rev. Microbiology, 1995. V. 21. № 1. – P. 1-18.
4. Niland B, Cash BD. Health benefits and adverse effects of a gluten-free diet in non-celiac disease patients. Gastroenterol Hepatol (NY). 2018;14:82–91.