

CZU: 582.982+665.337.8+631.81

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕЧЕБНОГО И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЯ *RHEUM RHAPONTICUM L* С ДОБАВЛЕНИЕМ
МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ПРОТИВ *SPHAEROTHECA FULIGINEA* НА РАССАДЕ
КУЛЬТУР СЕМ. *CUCURBITACEA* В ТЕПЛИЦЕ**

Алла ГЛАДКАЯ

Институт генетики, физиологии и защиты растений Академии наук Молдовы

Экстракт из корня *R. rhaponticum L* проявляет фунгицидные и активаторные свойства в контроле *Sphaerotheca fuliginea* у рассады овощных культур сем. *Cucurbitaceae*. Добавление микроэлементов может сделать композицию рентабельнее. Сочетание экстракта R с микроэлементом Cu^{2+} способствует увеличению лечебных свойств, а с микроэлементами Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} способствует усилению профилактических свойств препаративных форм.

Ключевые слова: *экстракт из корня R. rhaponticum L; рассада сем. Cucurbitaceae; Sphaerotheca fuliginea; микроэлементы.*

**INVESTIGAREA ACȚIUNII MEDICALE ȘI PROFILACTICE A EXTRACTULUI DIN RĂDĂCINI DE
RHEUM RHAPONTICUM L CU ADAOS DE MICROELEMENTE ÎMPOTRIVA *SPHAEROTHECA
FULIGINEA* LA RĂSADURILE ÎN SERĂ DE CULTURI VEGETALE DIN F. *CUCURBITACEA***

Extractul din rădăcina de *R. rhaponticum L* prezintă proprietăți fungicide și activatoare în controlul *Sphaerotheca fuliginea* la răsadurile de culturi vegetale din familia *Cucurbitaceae*. Adăugarea de oligoelemente poate face compoziția mai rentabilă. Combinația dintre un extract și un microelement Cu^{2+} mărește proprietățile medicale, iar microelementele (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) sporesc proprietățile profilactice ale preparatelor.

Cuvinte-cheie: *extract din rădăcina de R. rhaponticum, răsaduri de plante din F. Cucurbitaceae, Sphaerotheca fuliginea, microelemente.*

**INVESTIGATION OF THE MEDICAL AND PREVENTIVE ACTION OF THE *RHEUM RHAPONTICUM L*
ROOT EXTRACT WITH MICROELEMENTS AGAINST *SPHAEROTHECA FULIGINEA* OF F.
CUCURBITACEA SEEDLINGS IN THE GREENHOUSE**

The *R. rhaponticum L* root extract exhibits fungicidal and activator properties in the control of *Sphaerotheca fuliginea* on the family *Cucurbitaceae* seedlings. The addition of microelements can make the composition more profitable. The combination of an extract R with a microelement Cu^{2+} increases the medical properties, and with microelements (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) enhances the prophylactic properties of the preparations.

Keywords: *R. rhaponticum L root extract; the family Cucurbitaceae seedlings; Sphaerotheca fuliginea; microelements.*

Введение

Результаты многочисленных биохимических исследований экстрактов корня растений рода *Rheum* (сем. *Polygonaceae*), проведенных различными авторами, показали, что экстракт содержит, в основном, танины, фенолы и флавоноиды, причем в этаноловом экстракте этих веществ в 2-3 раза больше, чем в водном [1-4]. Учеными доказано, что эмодин является эффективным антифунгальным токсином, так как он очень эффективен против прорастания 17 видов протестированных грибов, в том числе семи видов *Alternaria* и трех видов *Fusarium* [5]. Этанольный экстракт из корней *R. officinale* Baill в составе жидкой композиции был использован Xiaojun Yang для контроля возбудителя мучнистой росы (*Podosphaera xanthii*). В большинстве исследований эффективность достигала свыше 80% [6]. Эти данные подтверждаются более современными работами А.Р. Keinath [7].

Биологически активные вещества экстракта *Rheum* используют также в качестве индукторов иммунитета растений. Потенциал биологической борьбы растительных экстрактов для контроля фитофтороза на растениях картофеля, вызванных *Phytophthora infestans*, оценивал Stephan D. на отделенных листьях и на горшечных растениях. Растительный экстракт из *R. rhabarbarum* оказал существенное влияние на уровень заражения *P. infestans*. Для того чтобы уточнить лечебные и профилактические

механизмы действия, тестовые вещества были применены за 24 ч до и через 90 мин после заражения *P. infestans*. Лучший эффект был получен, когда обработки были сделаны за 24 ч до заражения. Таким образом, были доказаны не только фунгицидные, но и иммуномодулирующие свойства экстракта из корня *R. rhabarbarum* [8]. Применение экстракта корня *R. palmatum* для защиты листьев винограда от инфекции *Plasmopara viticola* исследовал Godarda S. Он установил, что действующие вещества экстракта (эмодин, алоэ-эмодин, фисцион) не только являются токсичными для патогена, ингибируя первую стадию развития биотрофных гиф *Plasmopara viticola*, но и вызывают защитную реакцию у восприимчивого сорта *Vitis vinifera* в виде накопления фитоалексина, повышения активности пероксидазы, гиперчувствительной реакции [9]. Механизм действия экстракта из коря *R. emodi* в качестве активатора иммунитета исследовала Маугаа S. Экстракт оказался очень эффективен при профилактической и лечебной обработке против мучнистой росы (*Erysiphe cichoracearum*) бальзамина (*Impatiens balsamiana*) в полевых условиях. Анализ листьев методом высокопроизводительной жидкостной хроматографии (HPLC) доказал, что профилактическое действие экстракта связано с индуцированной устойчивостью к мучнистой росе, основанной на повышении синтеза фенольных кислот в листьях, обработанных экстрактом [10].

Установлено, что растения могут поглощать элементы не только корневой системой, но и листовой поверхностью. Поглощающая сила листьев даже при хорошем обеспечении водой равна 2 атм., а в жаркую погоду она повышается до 4-5 атм. Хелаты получаются при взаимодействии металлов (микроэлементов) с природными или синтетическими органическими кислотами определенного строения. Хелаты металлов имеют бóльшую растворимость (иногда на порядок), чем соли неорганических кислот, и гораздо лучше усваиваются растением.

Примененные нами микроэлементы объединяют активирующее и фунгицидное действие на растения. Медь (Cu^{2+}) участвует в метаболизме белков и углеводов, активирует некоторые ферменты, участвует в фотосинтезе, важна в азотном обмене. Повышает устойчивость растения к грибным и бактериальным заболеваниям, защищает хлорофилл от распада. Бор (B^{3+}) участвует в синтезе РНК и ДНК, в образовании гормонов. Цинк (Zn^{2+}) участвует в образовании триптофана, предшественника ауксина (гормона роста), и в синтезе протеинов. Железо (Fe^{2+}) содержится в хлоропластах, является необходимым элементом многих ферментов. Магний (Mg^{2+}) входит в состав хлорофилла, активирует фермент, преобразующий углекислый газ при фотосинтезе.

Целью нашей работы было определение эффективности препаративных форм на основе экстракта R отдельно и в сочетании с микроэлементами (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) в хелатной форме, в контроле *S. fuliginea* на рассаде овощных культур сем. *Cucurbitaceae* (тыквы, дыни, кабачка и огурца). Следовало решить такие задачи:

- определить оптимальное время (за 72 и 4 часа) для профилактической обработки рассады овощных культур сем. *Cucurbitaceae* до искусственного их заражения;
- определить влияние (фунгицидное, активирующее, профилактическое) препаративных форм на основе экстракта из корней *R. rhaponticum* в контроле мучнистой росы (*S. fuliginea*).

Материалы и методы

Предметом нашего исследования был экстракт корня *R. rhaponticum* (экстракт R) в разных концентрациях и в композиции с микроэлементами. Семена овощных культур сем. *Cucurbitaceae* проращивали в пластиковых емкостях с почвенной смесью. На стадии 4-х настоящих листьев проводили первую обработку рассады препаративными формами на основе экстракта R за 72 часа и 4 часа до заражения их суспензией *S. fuliginea*. Зараженные растения помещали в рандомизированные блоки теплицы при температуре 25°C - 28°C. Обработки препаративными формами проводились 4-кратно, в течение вегетации, с интервалом между обработками в 7 дней. Степень поражения (в баллах площадей, покрытых колониями) листа оценивалась в соответствии с методикой.

Состав препаративных форм на основе экстракта R: V1 – 0,5% (Cu^{2+} + R); V2 – 0,8% (Cu^{2+} + R); V3 – 0,5% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R); V4 – 0,8% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R); V5 – 0,5% R; V6 – 0,8% R. В качестве эталона был использован биопрепарат Recol - 5%, фунгицид на основе экстракта *Reynoutria sachalinensis* L., сем. *Polygonaceae*, зарегистрированный в Молдове. Контрольные растения не обрабатывали. Дозы микроэлементов были рассчитаны. В одном литре 1%-ного рабочего раствора было около 0,3 мг Cu^{2+} ; 0,1 мг микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}). Результаты опыта представлены в таблицах 1, 2, 3 и на рисунке.

Результаты

Анализ результатов нашего исследования позволяет утверждать, что биологическая эффективность препаративных форм на основе экстракта R в контроле *S. fuliginea* достаточно высока. Профилактические обработки рассады значительно снизили развитие болезни, в то время как контрольные растения были поражены и болезнь быстро развивалась (табл. 1, 2, 3 рис.). Добавление меди в рабочий раствор (V1 и V2) и снижение концентрации экстракта R вдвое создает лечебный эффект, при котором биологическая активность при обработке растений за 4 часа до заражения их суспензией *S. fuliginea* (72,0-79,0%) выше, чем при обработке за 72 часа (57,6-55,4%). Таким образом, эти препаративные формы сочетают в себе фунгицидные, профилактические свойства экстракта R с фунгицидными, лечебными свойствами меди. Значения эффективности экстракта на различных видах рассады различны. Наименьшая эффективность вариантов с Cu^{2+} (16,6%) наблюдалась у растений кабачка, при обработке за 72 часа до заражения. Этот результат свидетельствует о резком снижении иммунитета рассады после обработки данной композицией. При этом, значение биологической эффективности на рассаде кабачка при обработке чистым экстрактом R была максимальной и составила 93,4%. В остальных вариантах такой видоспецифической реакции не наблюдалось. Все четыре вида рассады реагировали на обработки сопоставимыми значениями эффективности.

Таблица 1

Сравнительные значения биологической эффективности препаративных форм на основе экстракта R в контроле *S. fuliginea* на рассаде культур сем. *Cucurbitaceae* в теплице

Вариант/ дата	Биологическая эффективность (%)									
	Учет 17.05. 2016 (72 ч.)					Учет 17.05. 2016 (4 ч.)				
	кабачок	огурец	дыня	тыква	Ср.	кабачок	огурец	дыня	тыква	Ср.
Эталон	84,2	72,1	87,8	88,2	83,1	90,4	93,7	82,3	87,4	88,5
V1	16,6	75,2	45,6	78,2	53,9	100,0	90,4	95,6	88,2	93,6
V2	16,6	63,6	86,6	53,0	55,0	100,0	82,9	86,7	97,1	91,7
V3	89,5	84,9	93,6	93,7	90,4	93,9	81,1	84,1	88,2	86,8
V4	89,5	93,7	93,9	93,7	92,7	90,4	82,9	86,7	92,3	88,1
V5	93,4	93,7	96,9	97,1	95,3	100	96,4	95,6	88,2	95,1
V6	93,4	96,9	96,9	96,0	95,8	100	96,4	95,6	97,1	97,3
НСР 05					16,7					4,9

Сочетание микроэлемента Cu^{2+} с экстрактом R способствовало увеличению биологической эффективности препаративных форм (93,6%; 91,7%) за счет присоединения к профилактическому фунгицидному действию экстракта R лечебного действия микроэлемента Cu^{2+} в контроле мучнистой росы (*S. fuliginea*) для рассады тыквы, дыни, кабачка и огурца (f. *Cucurbitaceae*). Однако этот положительный эффект наблюдался только в вариантах обработки составом непосредственно перед заражением (за 4 часа). В вариантах заражения мучнистой росой через 72 часа после обработки вышеуказанным составом эффективность была ниже эталонной (53,9%; 55,0%). Результаты свидетельствуют о наличии лечебного и отсутствии профилактического эффекта у этой препаративной формы.

Таблица 2

Сравнительные значения биологической эффективности препаративных форм на основе экстракта R в контроле *S. fuliginea* на рассаде культур сем. *Cucurbitaceae* в теплице

Вариант / дата	Биологическая эффективность (%)									
	Учет 24.05. 2016 (72 ч.)					Учет 24.05. 2016 (4 ч.)				
	кабачок	огурец	дыня	тыква	Ср.	кабачок	огурец	дыня	тыква	Ср.
Эталон	80,7	52,2	73,6	76,8	70,8	84,7	63,7	62,7	73,5	71,2
V1	51,2	76,8	17,8	84,5	57,6	61,4	77,8	85,6	62,9	72,0
V2	51,2	71,8	52,8	45,9	55,4	81,9	78,9	91,3	62,9	79,0
V3	22,1	74,5	62,0	69,5	57,1	81,9	78,9	71,4	62,9	74,1
V4	45,5	96,6	88,1	76,8	76,8	61,4	78,9	65,6	57,9	66,0
V5	65,7	91,0	64,7	58,4	71,0	61,4	85,9	56,9	62,9	67,1
V6	65,7	97,8	82,5	84,5	82,6	61,4	75,0	85,6	100	80,5
НСР 05					19,6					13,7

Добавление микроэлементов Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} к экстракту R (V3 и V4) усиливает профилактический эффект обработок (листовых подкормок). При первом учете биологическая эффективность этих препаративных форм оказалась выше (90,4-92,7%) при обработке рассады за 72 часа, чем при обработке за 4 часа (86,8-88,1%) до заражения суспензией *S. fuliginea*. Это явление объясняется тем, что за 72 часа до заражения микроэлементы успели проникнуть внутрь листьев и укрепить защитные свойства против фитопатогена. В то же время попадание питательных микроэлементов на листья непосредственно перед заражением (4 часа) поглощается фитопатогеном и способствует его развитию. Такой вывод подтверждается тем, что при последующих обработках композицией и учетах, значение эффективности, например, на рассаде кабачка снижается более чем в два раза. Такое бурное развитие инфекции поддерживается попаданием на листья питательных микроэлементов, при недостаточных концентрациях фунгицидного экстракта R. При последующих учетах средняя для всей рассады биологическая эффективность этой композиции стабилизировалась на уровне 77,2 – 81,0%, что соотносится с эталоном.

Таблица 3

**Сравнительные значения биологической эффективности
(обработка за 72 и 4 часа до заражения) препаративных форм на основе экстрактов R
в контроле *S. fuliginea* на рассаде культур сем. *Cucurbitaceae* в теплице**

вариант	Биологическая эффективность (%) 72 ч.			Биологическая эффективность (%) 4 ч.		
	1 учет	2 учет	средн.	1 учет	2 учет	средн.
Эталон	83,1	70,8	77,0	88,5	71,2	79,9
V1	53,9	57,6	55,8	93,6	72,0	82,8
V2	55,0	55,4	55,2	91,7	79,0	85,4
V3	90,4	57,1	73,8	86,8	74,1	80,5
V4	92,7	76,8	84,8	88,1	66,0	77,1
V5	95,3	71,0	83,2	95,1	67,1	81,1
V6	95,8	82,6	89,2	97,3	80,5	88,9
НСР 05			11,5			4,9

Композиция микроэлементов Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} с экстрактом R индуцировала устойчивость рассады тыквы, дыни, кабачка и огурца (f. *Cucurbitaceae*) к мучнистой росе при обработке за 72 часа до заражения. Биологическая эффективность, в средних значениях, составляла 90,4% – 92,7%. Эффективность обработки этим составом рассады за 4 часа до заражения была ниже (77,1-80,5%), так как питательные микроэлементы стимулировали не только листья растений, но и гифы прорастающего гриба.

Необходимо также отметить, что биологическая эффективность препаративных форм из чистого экстракта R в концентрациях 0,5-0,8% была более стабильна при обоих вариантах заражения и в динамике и составляла в среднем 82,2 – 89,1% (рис.). Эти значения выше, чем у препаративных форм с добавлением микроэлементов и эталона. Можно заключить, что снижение дозы экстракта R и добавление микроэлементов возможно, но не обязательно. Добавление микроэлементов (хелатов) может быть использовано для удешевления конечного препарата и требует дополнительных исследований технологии их применения. Микроэлементы могут сделать композицию рентабельнее, но эффективную фунгицидную часть композиций составляют биологически активные вещества экстракта R.



Рисунок. Средние значения биологической эффективности (обработка за 72 и 4 часа до заражения) препаративных форм на основе экстрактов R в контроле *S. fuliginea* на рассаде культур сем. *Cucurbitaceae* в теплице.

Наши исследования соотносятся с данными литературы, представленными выше о фунгицидном и активирующем действии экстракта R. Фунгицидное действие обусловлено прямым ингибированием гриба и его спор с помощью основных действующих веществ экстракта – эмодина и фисциона. Профилактическое действие экстракта связано с индуцированной устойчивостью к мучнистой росе, основанной на повышении синтеза фенольных кислот и активности пероксидазы в листьях, обработанных экстрактом. Новизной в наших исследованиях является выяснение влияния добавок микроэлементов к экстракту: так, добавление микродоз меди усиливает быстродействующий лечебный эффект экстракта, а микроэлементы усиливают в целом профилактические свойства. Но при недостаточной концентрации фунгицидного экстракта R в композиции с микроэлементами Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} эффект может оказаться обратным и развитие инфекции может усилиться.

Выводы

1. Биологическая эффективность препаративных форм на основе экстракта R, содержащих медь (Cu^{2+}), достигает более высоких значений при обработке растений рассады тыквы, дыни, кабачка и огурца (f. *Cucurbitaceae*) за 4 часа до заражения их суспензией мучнистой росы (*S. fuliginea*), чем при обработке за 72 часа. Наивысшая эффективность (98,6%) получена при обработке составами V1 – 1% (Cu^{2+} +R) и V2 – 0,5% (Cu^{2+} +R). Это можно объяснить тем, что профилактический эффект экстракта R был усилен лечебным действием микродоз меди. Добавление микроэлементов (хелатов) может быть использовано для увеличения рентабельности конечного препарата и требует дополнительных исследований технологии их применения.

2. Биологическая эффективность препаративных форм на основе экстракта R, содержащих микроэлементы Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} , является более высокой при обработке рассады тыквы, дыни, кабачка и огурца (f. *Cucurbitaceae*) за 72 часа до заражения их суспензией мучнистой росы (*S. fuliginea*), чем при обработке за 4 часа. Самая низкая эффективность (69,0%) в варианте V4 – 0,5% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R). Можно заключить, что питательные микроэлементы стимулировали не только листья растений, но и гифы прорастающего гриба, и поддерживали заражение на растении при недостаточной концентрации экстракта R.

3. Биологическая эффективность препаративных форм из чистого экстракта из корней *R. rhaponticum* L в концентрациях 0,5-0,8% была выше, чем у препаративных форм с добавлением микроэлементов и эталона.

Библиография:

- Ye M, Han J, Chen H, Zheng J and Guo D. Analysis of phenolic compounds in rhubarbs using liquid chromatography coupled with electro spray ionization mass spectrometry. In: *J Am Soc Mass Spectrom*, 18, 2007, p.82-91.
- Gao LL, Xu XD, Nang HJ, Yang JS, Chen SL, Chemical Constituents in *Rheum tanguticum*. In: *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 42(3), 2011, p.443-446.
- Qing-xia, WU Hai-feng, GUO Jian, NAN Hai-jiang, CHEN Shi-lin, YANG Jun-shan, Xu-dong, Review of Rhubarbs: Chemistry and Pharmacology. In: *Chinese Herbal Medicines*, 5(1), 2013, p.9-32.
- IBRAHIM, E.A., DOHA, H.A. BAKER, F.K. Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Rhubarb Roots Extract. In: *J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 39(2), Article No. 17, 2016, p.93-99.
- SINGH, U.P., SINGH, K.P., SINGH, S.P., RAM, V.B. Effect of emodin isolated from *Rhamnus triquetra* on spore germination of some fungi. In: *Fitopatologia Brasileira* 17, 1992, p.420-422.
- XIAOJUN, Yang, XINGXIA, Ma, LIJUN, Yang, DAZHAO, Yu, YIXIN, Qian, HANWEN, Ni. Efficacy of *Rheum officinale* liquid formulation on cucumber powdery mildew. In: *Crop Protection*, 28(12), 2009, p.1031-1035.
- KEINATH, A.P., Du BOSE, V.B. Controlling powdery mildew on cucurbit rootstock seedlings in the greenhouse with fungicides and biofungicides. In: *Crop Protection*, 42, 2012, p.338-344.
- STEPHAN, D., SCHMITT, A., MARTINS, S. Evaluation of biocontrol preparations and plant extracts for the control of *Phytophthora infestans* on potato leaves. In: *European Journal of Plant Pathology*. Volume 112. Issue 3, 2005, p.235-246.
- GODARDA, S., SLACANINB, I., VIRETA, O., GINDROA, K., Induction of defense mechanisms in grapevine leaves by emodin- and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew. In: *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 47. Issue 9, 2009, p.827-837.
- MAURYAA, S., RASHMI, S. & SINGHC, U.P. Antifungal activity of etanolic extract of Archu (*Rheum emodi*) on powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*) and its role in the induction of resistance in balsam (*Impatiens balsamania*)». In: *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*. Volume 43. Issue 16, 2010, p.1589-1595.