

also being conducted on the physiology and biochemistry of the main industrial flower crops, on the physiology of the mineral nutrition for peach, pear, cherry plum and table grapes. Leaf analysis as a method in diagnosing plants' need for nitrogen, phosphorus and potassium is being developed; the possibility of using trace elements in tea and citrus cultivation is being investigated; studies are being conducted related to the possibility of diagnosing the early maturity for various feijoa genotypes by morphological indicators, a method for assessing early ripeness is being developed. In recent years, the research conducted by the Plant Physiology and Biochemistry Department has been focused on the systems of regulation and management of adaptive processes in tea, citrus, fruit and flower crops; the influence of plant growth regulators on these processes is being studied. The study of biochemical indicators related to the nutritional significance for crops grown in the Centre is being intensified, which has made it possible to open the Youth Laboratory of Biosynthetic Processes of Plant Raw Materials Transformation, based on the Department. Thus, the complexity and fundamental nature of the conducted research confirm the relevance and significance of more than eighty-year scientific work carried out by the Plant Physiology and Biochemistry Department.

Key words: plant physiology and biochemistry, subtropical, southern fruit, flower, essential oil crops, frost resistance, irrigation regime, processing technology, physiology of mineral nutrition, trace element composition, metabolites, adaptability.

УДК 581.19+579.64:58.071

doi: 10.31360/2225-3068-2023-84-130-142

ВЛИЯНИЕ БИОУДОБРЕНИЯ НА БИОМАССУ И СОДЕРЖАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ У *BRASSICA OLERACEA* ПРИ БИОФОРТИФИКАЦИИ МЕДЬЮ

Малева М.Г.^{1*}, Борисова Г.Г.¹, Трипти¹, Кумар А.¹, Собенин А.В.²

¹ Уральский федеральный университет
им. первого Президента России Б.Н. Ельцина

² Институт горного дела Уральского отделения РАН
г. Екатеринбург, Россия, *e-mail: maria.maleva@mail.ru

Исследование направлено на оценку влияния биоудобрения на основе ризобактерий, стимулирующих рост растений (PGPR), на биомассу и содержание низкомолекулярных антиоксидантов у *Brassica oleracea* L. (сорт 'Экспресс' F1) при биофортификации медью. Штамм металлоторантных ростстимулирующих ризобактерий (*Bacillus altitudinis*, TF16a) был выделен из ризосферной почвы *Tussilago farfara* L. в окрестностях медеплавильного комбината, и жидкая культура бактерий (10^8 КОЕ/мл) была использована для создания биоудобрения. В качестве материала-носителя для PGPR был выбран биочар,

изготовленный из древесины березы. Растения выращивали в пластиковых горшках в растительной камере в течение 30 дней: фотопериод – 14 : 10 (день : ночь), освещённость – 150 ± 20 мкМ/м² с, температура – 23 ± 2 °С. Эксперимент включал в себя 4 варианта в 2-х независимых повторностях: контрольный торфяной субстрат с добавлением 5%-ного биочара по объёму; субстрат с добавлением 5%-ного биоудобрения на основе PGPR и биочара; субстрат с добавлением 100 мг/кг меди; субстрат с добавлением 5%-ного биоудобрения и 100 мг/кг меди. Почву обрабатывали раствором сульфата меди (сульфатная форма). Исследование показало, что бактериальное биоудобрение препятствовало избыточному накоплению ионов меди в органах *B. oleracea* и стабилизировало их в подземной биомассе. Совместное внесение в почву биоудобрения и меди оказывало положительное влияние на надземную и подземную биомассу *B. oleracea*, увеличивая её в среднем на 23 %. В присутствии биоудобрения существенно (в среднем на 33 %) повышалось накопление в листьях *B. oleracea* таких низкомолекулярных антиоксидантов, как каротиноиды, свободный пролин и растворимые фенольные соединения, включая флавоноиды, что, вероятно, будет способствовать повышению устойчивости растений и улучшать их биологическую ценность. Сделан вывод о том, что биофортификация растений капусты медью, наряду с биоудобрением, повышала антиоксидантную активность *B. oleracea*.

Ключевые слова: капуста белокочанная, ростстимулирующие ризобактерии (PGPR), *Bacillus altitudinis*, биочар, биообогащение, низкомолекулярные антиоксиданты.

Введение. Обогащение рациона человека природными биологически активными соединениями является одним из наиболее эффективных способов обеспечения населения полноценными и сбалансированными продуктами питания. Дефицит антиоксидантов, витаминов и других биологически активных веществ в пищевых продуктах вызывает риски многих заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ [4, 8]. Поэтому особую актуальность представляет поиск садовых и овощных культур как источников природных биологически активных веществ, необходимых для жизнедеятельности человека. В последние годы все большее внимание уделяется расширению ассортимента зелёных культур в рационе питания, как важнейших источников не только витаминно-минерального комплекса, но и антиоксидантов, пребиотиков и пищевых волокон [4]. Кроме того, многие из зелёных культур имеют декоративное значение и широко используются в ландшафтном дизайне. Одним из наиболее перспективных подходов к решению проблемы сбалансированного питания населения является биофортификация, или обогащение растительного сырья и продуктов растениеводства, включая плодоводство и овощеводство [8]. Особый интерес представляет микробиологическая биофортификация, которая предполагает использование бактерий для повышения биологической ценности сырья и пищевых продуктов.

Одной из наиболее эффективных агробιοтехнологий, способствующих повышению не только продуктивности культурных растений, но и их биологической ценности, является использование биоудобрений на основе металлоторолерантных бактерий, стимулирующих рост растений (PGP), к которым относятся как ризосферные (PGPR), так и эндофитные бактерии [21, 22, 27]. PGP-бактерии способны фиксировать атмосферный азот, солюбилизовать недоступные для растений соединения фосфора, калия, железа, цинка и др., ингибировать развитие фитопатогенов, производить биологически активные вещества, включая фитогормоны, а также принимать активное участие в связывании тяжёлых металлов, усиливая ремедиационную способность растений [3, 14, 16].

Среди преимуществ, которыми обладают PGPR в сравнении с химическими аналогами, можно отметить то, что их применение не связано с рисками загрязнения окружающей среды. В связи с этим поиск безопасных биопрепаратов для стимуляции роста растений без ущерба для окружающей среды приобретает всё большее значение. В качестве материала-носителя для бактерий в составе биоудобрений могут использоваться разные материалы (песок, торф, вермикулит и др.). Однако всё большую популярность приобретает биочар (биоуголь), получаемый путём пиролиза, газификации или гидротермальной карбонизации из различных органических отходов [23]. Показано, что внесение биочара приводит к улучшению структуры и водно-физических характеристик почвы, способствует развитию почвенной микрофлоры, снижает токсическое действие органических и неорганических поллютантов за счёт их связывания [18, 21].

Все аэробные организмы подвергаются постоянной опасности, связанной с образованием в клетках активных форм кислорода (АФК). Различные неблагоприятные факторы внешней среды, включая как дефицит, так и избыток макро- и микроэлементов, могут приводить к повышенной генерации АФК и вызывать окислительный стресс [9]. Поэтому одной из основных задач биофортификации является повышение содержания антиоксидантов в растительном сырье и продуктах питания.

Медь относится к важнейшим микроэлементам, необходимым для роста и развития всех живых организмов. Она участвует в дыхании, фотосинтезе растений и других ключевых метаболических процессах. Недостаточное содержание этого элемента в почве, как и его избыток, может оказывать негативное влияние на растения и другие организмы [25, 28].

Целью данной работы являлось изучение влияния биоудобрения на основе металлоторолерантных PGPR и биочара на биомассу и содержание низкомолекулярных антиоксидантов (каротиноиды, свободный пролин, растворимые фенольные соединения) у *Brassica oleracea* L. при биофортификации медью.

Объекты и методы исследования. Исследование проводили в модельных условиях на *B. oleracea* (капуста белокочанная), сем. Brassicaceae (крестоцветные). Данный вид является универсальной культурой, которая широко возделывается на всей территории Российской Федерации [6]. Для экспериментов использовали сорт ‘Экспресс’ F1, выведенный на базе селекционной станции имени Н.Н. Тимофеева (г. Москва), который отличается ультраскороспелостью (период созревания 60–90 суток), имеет высокую урожайность, характеризуется жаро- и засухоустойчивостью. Сорт универсален, так как может успешно расти на разных типах почв и практически в любых климатических условиях, включая зону субтропиков [1, 2].

Для приготовления бактериального биоудобрения (ББУ) был выбран штамм TF16a металлоторолерантных ростстимулирующих бактерий *Bacillus altitudinis*, номер регистрации в NCBI (Национальный Центр Информации о Биотехнологиях) ОК103906 [21]. Бактерии были выделены из ризосферной почвы *Tussilago farfara* L., произрастающей на территории вблизи медеплавильного комбината АО «Карабашмедь» (г. Карабаш, Челябинская область, Россия).

Культуру предварительно выращивали в течение ночи до поздней логарифмической фазы при 28 ± 2 °C в бульоне Лурия–Бертани (LB) в шейкере при 150 об./мин, затем дважды промывали стерильным 0,85%-ным NaCl, используя 30-минутные стадии центрифугирования при 4 000 g и 4 °C. Разведённую суспензию наносили на чашки Петри со средой LB и подсчитывали число колониеобразующих единиц (КОЕ). Для приготовления ББУ использовали жидкую культуру *B. altitudinis* (10^8 КОЕ/мл). В качестве материала-носителя для PGPR был выбран биочар, изготовленный ООО «ДианАгро» (г. Новосибирск, Россия) методом бескислородного пиролиза из древесины березы высокой плотности. Промытый посевной бактериальный материал добавляли в стерильных условиях в простерилизованный биочар, все смешивали вручную в полиэтиленовом мешке и увлажняли до 40%-ного содержания влаги. Затем упаковывали, оставляя около 70 % свободного пространства для обеспечения достаточной аэрации биоинокулятов, и хранили при 25 °C в сухом помещении.

Модельные эксперименты проводили в ноябре-декабре 2021 г. и повторяли в апреле-мае 2022 г. Полученные результаты двух независимых экспериментов усредняли. Растения выращивали в пластиковых горшках для рассады объёмом 100 мл в растительных камерах в течение 30 дней: фотопериод – 14 : 10 (день : ночь), освещённость – 150 ± 20 мкМ/м² с, температура – 23 ± 2 °C. Эксперимент включал в себя 4 варианта по 9 горшков для каждого: контрольный торфяной субстрат (КС) с добавлением 5 % (по объёму) биочара; субстрат с добавлением 5 % бактериального биоудобрения на основе PGPR и биочара (ББУ); субстрат с добавлением

100 мг/кг меди (Cu); субстрат с добавлением 5 % ББУ и 100 мг/кг Cu (ББУ + Cu). Субстрат предварительно дважды стерилизовали при 130 °С в течение 15 минут. Медь однократно вносили в почву в начале эксперимента в виде раствора (сульфатная форма). В каждый горшок высаживали по 3 семени капусты.

Содержание меди в контрольном субстрате, побегах и корнях *B. oleracea* определяли с помощью атомно-абсорбционного пламенного спектрометра AA240FS (Varian Australia Pty Ltd., Австралия). Предварительно проводили мокрое озоление почвенных и растительных образцов в 70%-ной азотной кислоте. Коэффициент транслокации определяли, как отношение содержания меди в побегах *B. oleracea* к её содержанию в корнях. Сырую и сухую надземную и подземную биомассу *B. oleracea* оценивали путём взвешивания. Физиолого-биохимические параметры листьев определяли спектрофотометрически (APEL PD-303UV, Япония). Экстракцию фотосинтетических пигментов проводили в 80%-ном ацетоне. Содержание фотосинтетических пигментов измеряли при 470, 647 и 663 нм. Количество каротиноидов рассчитывали согласно Лихтентайлеру [24]. Содержание свободного пролина определяли после экстракции в кипящей воде (95 °С). Окрашивание проводили раствором нингидрина с добавлением ледяной уксусной кислоты в эквивалентном соотношении по объёму при 520 нм [5]. Общее содержание растворимых фенольных соединений в листьях растений определяли при 725 нм с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [26]. В качестве стандарта использовали галловую кислоту. Содержание флавоноидов определяли в том же экстракте при 420 нм после 15-минутной реакции с 10%-ным раствором $AlCl_3$ (1:1), согласно [13], используя в качестве стандарта раствор рутина.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Excel 16.0 и STATISTICA 10.0. Физиолого-биохимические параметры измеряли на выборке из 10–15 листьев в каждом варианте в 6 аналитических повторностях. Проверку на нормальность распределения выборок параметров проводили с помощью W-теста Шапиро–Уилка, однородность дисперсий оценивали с помощью критерия Левена. Для определения отдельного и совместного влияния ББУ и меди использовали факторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA). Достоверность различий между вариантами оценивали с помощью критерия Тьюки (Tukey HSD test) при $p < 0,05$. На рисунках и в таблице указаны средние арифметические значения и их стандартные ошибки, достоверные различия между вариантами обозначены разными латинскими буквами.

Результаты и их обсуждение. Содержание меди в побегах *B. oleracea* в контрольном варианте и в присутствии ББУ составляло в среднем 8,45, а в корнях – 13,67 мг/кг сухой массы. При этом коэффициент транслокации из корней в побег был равен 0,62. Добавление меди в почву увеличивало её накопление в побегах и корнях в 2,9 и в 2,4 раза, соответственно, по сравнению с контролем (24,51 и 32,81 мг/кг сухой массы), а коэффициент транслокации повышался до 0,75. При совместном внесении меди и ББУ содержание металла в корнях снижалось в 2,0 раза. Более того, добавление ББУ практически полностью препятствовало аккумуляции меди в побегах: коэффициент транслокации снижался до 0,56. Уменьшение накопления меди в побегах и корнях *B. oleracea* при её совместном внесении с биоудобрением, очевидно, объясняется сорбцией металла ризосферными бактериями и биочаром [25, 28].

Добавление ББУ к почвенному субстрату фактически не влияло на сырую биомассу побегов и корней *B. oleracea* (табл. 1). Медь не оказывала негативного влияния на сырую биомассу побегов, однако достоверно снижала вес корней (на 10 % в сравнении с контролем). При внесении ББУ совместно с медью наблюдалось достоверное увеличение как надземной, так и подземной биомассы *B. oleracea*, вследствие чего общая сырая биомасса увеличивалась на 24 % по сравнению с контролем. Аналогичная тенденция наблюдалась при оценке сухой биомассы: при одновременном добавлении ББУ и Cu она увеличивалась на 22 %, в то время как в присутствии только ББУ достоверных отличий от контроля не выявлено (табл. 1).

Таблица 1. Сырая и сухая биомасса растений *B. oleracea* и их органов
Table 1. Raw and dry biomass of *B. oleracea* plants and their organs

| Органы | Варианты опыта | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | КС | ББУ | Cu | ББУ + Cu |
| Сырая биомасса (в расчёте на одно растение), мг | | | | |
| Листья | 277,63 ±15,25a | 288,54 ±7,02a | 262,61 ±10,45a | 370,27 ±11,59b |
| Стебель | 160,35 ±7,34a | 172,52 ±7,65ab | 162,77 ±4,04a | 189,56 ±8,04b |
| Корни | 21,66 ±0,57a | 22,02 ±0,64a | 19,38 ±0,78b | 24,03 ±0,44c |
| Общая | 459,64 ±17,99a | 483,08 ±13,43a | 444,76 ±9,50a | 583,86 ±15,22b |
| Сухая биомасса (в расчёте на одно растение), мг | | | | |
| Листья | 36,77 ±0,99a | 37,36 ±0,85a | 31,34 ±1,56b | 46,32 ±1,88c |
| Стебель | 14,69 ±0,70a | 15,01 ±0,55ab | 14,41 ±0,25a | 16,66 ±0,40b |
| Корни | 2,66 ±0,09a | 2,75 ±0,09a | 2,16 ±0,08b | 3,28 ±0,13c |
| Общая | 54,12 ±0,98a | 55,12 ±0,88a | 47,91 ±1,93b | 66,26 ±1,99c |

Примечание: КС – контрольный субстрат,
ББУ – бактериальное биоудобрение

Как было отмечено, ризобактерии *B. altitudinis*, штамм TF16a, используемые в качестве инокулята для получения ББУ, обладают не только металлотолерантностью, но и ростостимулирующими свойствами. Ранее было показано, что эти PGPR способны синтезировать индолил-3-уксусную кислоту (в среднем 15,5 мг/л), солюбилизировать нерастворимые фосфаты (до 215 мг/л), а также продуцировать аммоний и сидерофоры [21]. Однако отдельное внесение ББУ не способствовало существенному росту биомассы *B. oleracea*. По-видимому, для активации ростостимулирующей активности выбранного штамма ризобактерий, исходная концентрация Cu (25 мг/кг) в почвенном субстрате была недостаточна. Как было отмечено, используемый для приготовления ББУ штамм бактерий был выделен из ризосферы растений, длительное время произрастающих вблизи медеплавильного комбината. Известно, что медь является составной частью ряда важнейших редокс ферментов – полифенолоксидазы, аскорбинатоксидазы, супероксиддисмутазы и др. Данный элемент оказывает положительное влияние на содержание фотосинтетических пигментов, а также входит в состав дыхательного фермента – цитохромоксидазы и медьсодержащего белка – пластоцианина, поэтому дефицит меди приводит к нарушению роста и развития растений [28]. Внесение в исходный почвенный субстрат меди в концентрации 100 мг/кг, вероятно, покрывало её дефицит, возникающий при добавлении ББУ, и активировало ростостимулирующую активность PGPR.

Для предотвращения избыточного накопления АФК живые организмы используют как ферменты антиоксидантной защиты, так и неферментативные антиоксиданты, такие как каротиноиды, фенольные соединения, пролин, аскорбиновая кислота, глутатион, токоферол и др. [9, 12, 17, 19]. Одной из основных задач биофортификации является повышение содержания антиоксидантов в продуктах питания [8].

Содержание каротиноидов в листьях *B. oleracea* увеличивалось по сравнению с контролем как при отдельном, так и совместном действии ББУ и меди (в 1,2 и 1,4 раза, соответственно, рис. 1а). Каротиноиды относятся к липофильным антиоксидантам, которые не только участвуют в поглощении света в качестве дополнительных фотосинтетических пигментов, но и защищают молекулы хлорофилла от необратимого фотоокисления [10]. Увеличение их количества у *B. oleracea* при добавлении ББУ и меди, очевидно, свидетельствует об активации процессов их синтеза.

Одним из низкомолекулярных соединений, участвующих в защите организмов от АФК, является свободный пролин [12, 19]. Его накопление в клетках – это неспецифическая защитная реакция растений на действие различных стрессовых факторов. Проллин выполняет мембранопротекторную, осморегуляторную, антиоксидантную функции [7, 19]. В присутствии ББУ его содержание в листьях *B. oleracea* существенно повышалось

по сравнению с контролем: при раздельном добавлении – в 1,6 раза, а при совместном с медью – в 2,5 раза (рис. 1б). Известно, что PGP-ризобактерии способны увеличивать накопление пролина в клетках в стрессовых условиях и тем самым повышать устойчивость растений [11]. Отдельное внесение меди также приводило к увеличению содержания пролина, но в меньшей степени (на 33 % по сравнению с контролем).

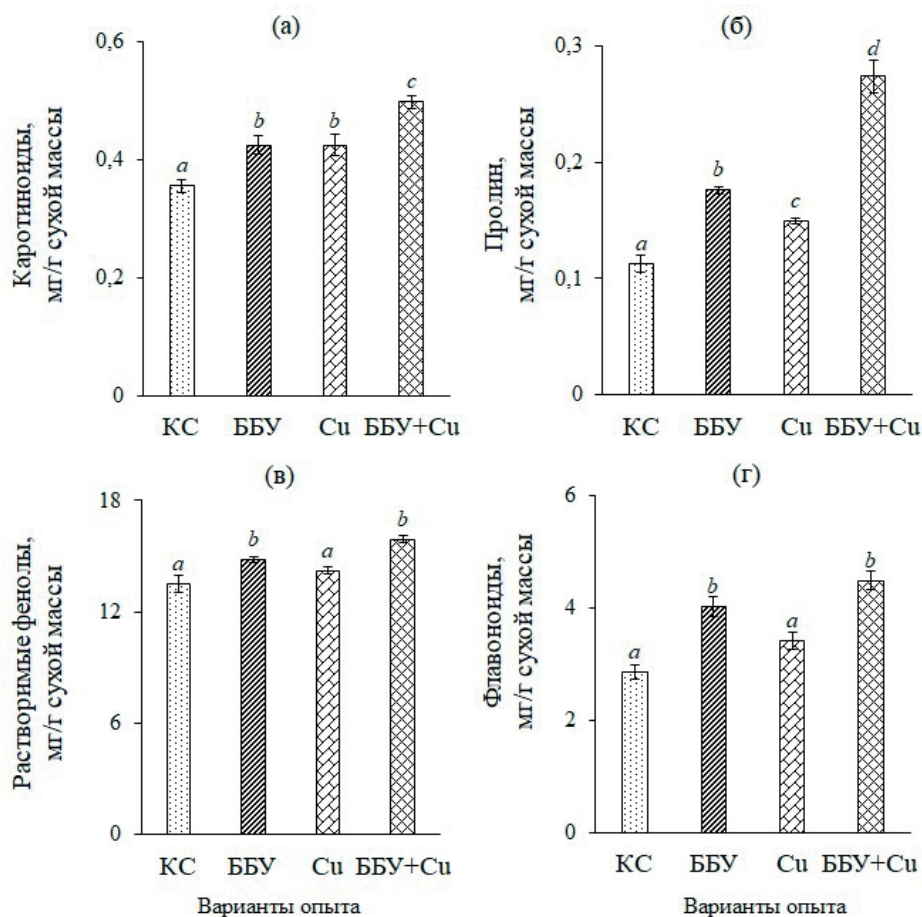


Рис. 1. Содержание каротиноидов (а), свободного пролина (б), растворимых фенольных соединений (в) и флавоноидов (г) в листьях *B. oleracea*;

КС – контрольный субстрат, ББУ – бактериальное биоудобрение

Fig. 1. The content of carotenoids (a), free proline (b), soluble phenolic compounds (c) and flavonoids (d) in the leaves of *B. oleracea*;

CS – control substrate, BBF – bacterial biofertilizer

Важная роль в защите клеток от избыточного количества АФК отводится таким низкомолекулярным антиоксидантам, как растворимые фенолы [15]. Фенольные соединения, как и пролин, способны к непосредственному

взаимодействию как с поллютантами (например, тяжёлыми металлами), так и с АФК [20]. Отмечено, что в вариантах с внесением ББУ наблюдался достоверный рост содержания растворимых фенольных соединений – в среднем в 1,2 раза по сравнению с контролем (рис. 1в). В присутствии меди (без ББУ) содержание фенолов тоже повышалось, но в меньшей степени.

Среди представителей фенольных соединений с высокой антиоксидантной активностью особую роль играют флавоноиды. Они участвуют в процессах дыхания и онтогенеза, играют важную роль в редокс-реакциях, сопутствующих окислительному стрессу, увеличивают стабильность каротиноидов, защищают растительные ткани от избыточной солнечной радиации; влияют на проницаемость мембран, являются субстратами ряда ферментов [17]. Было отмечено существенное увеличение содержания флавоноидов во всех вариантах опыта, как при отдельном действии меди (на 21 %), так и при внесении ББУ (на 43 %). Однако наибольший эффект наблюдался при совместном добавлении ББУ и меди: содержание этих антиоксидантов возрастало в 1,6 раза (рис. 1г). Доля флавоноидов от общего содержания фенольных соединений при внесении ББУ увеличивалась от 21 (КС) до 28 % (ББУ + Cu).

Таблица 2. Результаты факторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA)

Table 2. Results of factor analysis of variance (two-way ANOVA)

| Параметры | Факторы | | | | | |
|--------------------------------------|---------|-------|--------|-------|----------|-------|
| | ББУ | | Cu | | ББУ + Cu | |
| | F | p | F | p | F | p |
| Надземная сырая биомасса, мг | 30,04* | 0,000 | 8,99* | 0,006 | 15,01* | 0,001 |
| Подземная сырая биомасса, мг | 16,49* | 0,001 | 0,05 | 0,830 | 12,14* | 0,002 |
| Надземная сухая биомасса, мг | 37,80* | 0,000 | 1,78 | 0,192 | 30,93* | 0,000 |
| Подземная сухая биомасса, мг | 36,80* | 0,000 | 0,05 | 0,818 | 26,69* | 0,000 |
| Каротиноиды, мг/г сухой массы | 24,54* | 0,000 | 24,86* | 0,000 | 0,03 | 0,871 |
| Пролин, мг/г сухой массы | 127,8* | 0,000 | 65,5* | 0,000 | 13,4* | 0,001 |
| Растворимые фенолы, мг/г сухой массы | 24,42* | 0,000 | 0,38 | 0,544 | 2,08 | 0,157 |
| Флавоноиды, мг/г сухой массы | 29,30* | 0,000 | 6,25* | 0,017 | 0,08 | 0,775 |

Примечание: * – значимое влияние фактора

Результаты проведённого двухфакторного дисперсионного анализа показали, что внесение биоудобрения на основе металлоторантных PGPR и биочара оказывало значимое влияние на все исследованные параметры *B. oleracea*, в то время как отдельное добавление меди оказывало значимое воздействие лишь на надземную сырую биомассу, содержание каротиноидов, свободного пролина и флавоноидов (табл. 2). Совместное применение ББУ и меди оказывало достоверное влияние на сырую и сухую биомассу *B. oleracea*, а также содержание свободного пролина.

Выводы. Проведённое исследование показало, что биоудобрение на основе металлоторантных ростостимулирующих ризобактерий *Bacillus altitudinis* (штамм TF16a) и биочара препятствовало избыточному накоплению ионов меди в органах *Brassica oleracea* и стабилизировало их в подземной биомассе. Совместное внесение в почву биоудобрения и меди оказывало положительное влияние на надземную и подземную биомассу *B. oleracea*, увеличивая её в среднем на 23 %. В присутствии бактериального биоудобрения существенно (в среднем на 33 %) повышалось накопление в листьях *B. oleracea* таких низкомолекулярных антиоксидантов, как каротиноиды, свободный пролин и растворимые фенольные соединения, включая флавоноиды, что, вероятно, будет способствовать повышению устойчивости растений и улучшению их биологической ценности. Биофортификация растений капусты медью, наряду с бактериальным биоудобрением, усиливала антиоксидантную активность *B. oleracea*.

Исследование выполнено за счёт гранта
Российского научного фонда № 23-26-00292,
<https://rscf.ru/project/23-26-00292>

Список литературы/References

1. Баутин В.М., Монахос Г.Ф. Экономическая эффективность селекции и семеноводства F1 гибридов капусты белокочанной, Известия ТСХА. 2013; 2 : 107-116. [Bautin V.M., Monakhos G.F. Economic efficiency of selection and seed production of F1 hybrids of white cabbage, Izv. Timiryazev.s.-h.akad. 2013; 2: 107-116. (In Rus.)].
2. Белокочанная капуста 'Экспресс' – вкуснейший ультраранний гибрид! 2018, URL: <https://kapusty.ru/kapusta-express-opisanie.html>. Ссылка активна на 18.01.2023. [White cabbage Express – a delicious ultra-early hybrid! 2018, URL: <https://kapusty.ru/kapusta-express-description.html>. The link is active on 01.18.2023. (In Rus.)].
3. Борисова Г.Г., Воропаева О.В., Малева М.Г. и др. Биоудобрение на основе силикатных бактерий повышает продуктивность почв и культурных растений (на примере *Brassica juncea* (L.) Czern.), Субтропическое и декоративное садоводство. 2022; 80 : 140-151. [Borisova G.G., Voropaeva O.V., Maleva M.G. et al. Biofertilizer based on silicate bacteria increases the productivity of soils and cultivated plants (on the example of *Brassica juncea* (l.) czern.), Subtropical and ornamental horticulture. 2022; 80 : 140-151. (In Rus.)]. DOI: 10.31360/2225-3068-2022-80-140-151.
4. Елисеева Л.Г., Белкин Ю.Д., Сими́на Д.В. и др. Новые направления разработки обогащённых пищевых продуктов для здорового питания, Международный научно-исследовательский журнал. 2022; 4(118) : 50-55. [Eliseeva L.G., Belkin Yu.D.,

Simina D.V. et al. New trajectories in the development of fortified foods for a healthy diet, International research journal. 2022; 4(118) : 50-55. (In Rus.]. DOI: 10.23670/IRJ.2022.118.4.009.

5. Калинкина Л., Назаренко Л., Гордеева Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе, Физиология растений. 1990; 37(3) : 617-621. [Kalinkina L.G., Nazarenko L.V., Gordeeva E.E. A modified method of introduction of free amino acids from plant materials, Soviet Plant Physiology (Moscow). 1990; 37(3) : 617-621. (In Rus.)].

6. Киракосян Р.Н., Калашникова Е.А. Получение растений-регенерантов из репродуктивных органов растений капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.) *in vitro*, Известия ТСХА. 2015; 1 : 18-25. [Kirakosyan R.N., Kalashnikova E.A. Production of regenerated white cabbage plants (*Brassica oleracea* L.) from reproductive organs *in vitro*, Izv. Timiryazev.s.-h.akad. 2015; 1 : 18-25. (In Rus.)].

7. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях, Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія біологія. 2014; 2(32) : 6-22. [Kolupaev Yu.E., Vayner A.A., Yastreba T.O. Proline: physiological functions and regulation of its content in plants under stress conditions, Bulletin of Kharkiv National Agricultural University. Biology Series. 2014; 2(32) : 6-22. (In Rus.)].

8. Мамедов М.И., Пышная О.Н., Байков А.А. и др. Состав антиоксидантов в плодах *Capsicum* spp. для получения биофортифицированной продукции, Сельскохозяйственная биология. 2017; 52(5) : 1021-1029. [Mamedov M.I., Pishnaya O.N., Baikov A.A. et al. Antioxidant contents of pepper *Capsicum* spp. for use in biofortification, Agricultural Biology. 2017; 52(5) : 1021-1029. (In Rus.)].

9. Мартусевич А.К., Карузин К.А., Самойлов А.С. Антиоксидантная терапия: современное состояние, возможности и перспективы, Биорадикалы и антиоксиданты. 2018; 5(1) : 5-22. [Martusevich A.K., Karuzin K.A., Samoilov A.S. Antioxidant therapy: current state, possibilities and prospects, Bioradicals and antioxidants. 2018; 5(1) : 5-22. (In Rus.)].

10. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенков М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах, Успехи современного естествознания. 2006; 7 : 29-36. [Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Bizenkova M.N. Molecular-cellular mechanisms of free radical inactivation in biological systems, Successes of modern natural science. 2006; 7 : 29-36. (In Rus.)].

11. Ansary M.H., Rahmani H.A., Ardakani M.R. et al. Effect of *Pseudomonas fluorescent* on proline and phytohormonal status of maize (*Zea mays* L.) under water deficit stress, Annals of Biological Research. 2012; 3(2) : 1054-1062.

12. Aslam M., Saeed M.S., Sattar S. et al. Specific role of proline against heavy metals toxicity in plants, Journal of Pure & Applied Bioscience. 2017; 5(6) : 27-34. DOI: 10.18782/2320-7051.6032.

13. Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of Food and Drug Analysis. 2002; 1 : 178-182. DOI: 10.38212/2224-6614.2748.

14. El-Meihy R.M., Abou-Aly H.E., Youssef A.M. et al. Efficiency of heavy metals-tolerant plant growth promoting bacteria for alleviating heavy metals toxicity on sorghum, Environmental and Experimental Botany. 2019; 162 : 295-301. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2019.03.005.

15. Foti M.C. Antioxidant properties of phenols, Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2007; 59(12) : 1673-1685. DOI: 10.1211/jpp.59.12.0010.

16. Goswami D., Thakker J.N., Dhandhukia P.C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review, Cogent Food & Agriculture. 2016; 2(1) : 1127500. DOI: 10.1080/23311932.2015.1127500.

17. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Zulfiqar F. et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defence regulator, Antioxidants. 2020; 9 : 681. DOI: 10.3390/antiox908068

18. Kamran M., Malik Z., Parveen A. et al. Ameliorative effects of biochar on rapeseed (*Brassica napus* L.) growth and heavy metal immobilization in soil irrigated with untreated wastewater, *Journal of Plant Growth Regulation*. 2020; 39 : 266-281. DOI: 10.1007/s00344-019-09980-3.
19. Kaur G., Asthir B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance, *Biologia Plantarum*. 2015; 59(4) : 609-619. DOI: 10.1007/s10535-015-0549-3.
20. Kısa D., Elmastaş M., Öztürk L., Kayır Ö. Responses of the phenolic compounds of *Zea mays* under heavy metal stress, *Applied Biological Chemistry*. 2016; 59(6) : 813-820. DOI: 10.1007/s13765-016-0229-9.
21. Kumar A., Borisova G., Maleva M. et al. Biofertilizer based on biochar and metal-tolerant plant growth promoting rhizobacteria alleviates copper impact on morphophysiological traits in *Brassica napus* L., *Microorganisms*. 2022; 10 : 2164. DOI: 10.3390/microorganisms10112164.
22. Kumar A., Tripti, Voropaeva O. et al. Bioaugmentation with copper tolerant endophyte *Pseudomonas lurida* strain EOO26 for improved plant growth and copper phytoremediation by *Helianthus annuus*, *Chemosphere*. 2021; 266 : 128983. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128983.
23. Lehmann J., Rillig M.C., Thies J. et al. Biochar effects on soil biota – A review, *Soil Biology and Biochemistry*. 2011; 43(9) : 1812-1836. DOI: 10.1016/j.soilbio.2011.04.022.
24. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes, *Methods in Enzymology*. 1987; 148 : 350-382. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
25. Mwamba T.M., Ali S., Ali B. et al. Interactive effects of cadmium and copper on metal accumulation, oxidative stress, and mineral composition in *Brassica napus*, *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2016; 13(9) : 2163-2174. DOI: 10.1007/s13762-016-1040-1.
26. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*. 1999; 299 : 152-178. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
27. Tripti, Kumar A., Usmani Z., Kumar V., Anshumali. Biochar and flyash inoculated with plant growth promoting rhizobacteria act as potential biofertilizer for luxuriant growth and yield of tomato plant, *Journal of Environmental Management*. 2017; 190 : 20e27. DOI: 10.1016/j.jenvman.2016.11.060.
28. Yruea I. Copper in plants, *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 2005; 17 : 145-156. DOI: 10.1590/S1677-04202005000100012.

EFFECT OF THE BIOFERTILIZER ON BIOMASS AND CONTENT OF LOW MOLECULAR WEIGHT ANTIOXIDANTS IN *BRASSICA OLERACEA* WITHIN COPPER BIOFORTIFICATION

Maleva M.G.^{1,*}, Borisova G.G.¹, Tripti¹, Kumar A.¹, Sobenin A.V.²

¹ Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin

² Institute of Mining of the Ural Branch of RAS

Yekaterinburg, Russia, *e-mail: maria.maleva@mail.ru

The study is aimed at assessing the effect of biofertilizers, based on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), on biomass and the content of low molecular weight antioxidants in *Brassica oleracea* L. (cultivar 'Express' F1) within copper biofortification. A strain of metallotolerant growth promoting rhizobacteria (*Bacillus altitudinis*, TF16a) was isolated from the rhizosphere soil of *Tussilago farfara* L. in the vicinity of the copper smelting plant, and a liquid bacterial culture (10⁸ CFU/ml) was used to create the biofertilizer. Biochar made of birch wood was chosen as the carrier material for PGPR. The plants were grown in plastic pots in a growing chamber for 30 days: photoperiod

– 14 : 10 (day : night), illumination – 150 ± 20 mcm/m², temperature – 23 ± 2 °C. The experiment included 4 variants in 2 independent repetitions: a control peat substrate added by 5 % biochar by volume; a substrate added by 5% biofertilizer based on PGPR and biochar; a substrate added by 100 mg/kg of copper; a substrate added by 5 % biofertilizer and 100 mg/kg of copper. The soil was treated with copper sulfate solution (sulfate form). The study has shown that the bacterial biofertilizer prevented excessive accumulation of copper ions in the organs of *B. oleracea* and stabilized them in the underground biomass. The biofertilizer and copper jointly introduced into the soil had a positive effect on the aboveground and underground biomass of *B. oleracea*, increasing it by an average of 23 %. Within the biofertilizer, accumulation of such low molecular weight antioxidants as carotenoids, free proline and soluble phenolic compounds, including flavonoids in *B. oleracea* leaves increased significantly (by an average of 33 %)., which is likely to increase plants resistance and improve their biological value. It is concluded that biofortification of cabbage plants with copper, along with the biofertilizer, increased the antioxidant activity in *B. oleracea*.

Keywords: white cabbage, plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), *Bacillus altitudinis*, biochar, biofortification, low molecular weight antioxidants.