

**АНАЛИЗ РОСТРЕГУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ КОНЬЮГАТОВ
ЭПИКАСТАСТЕРОНА С ОРГАНИЧЕСКИМИ КИСЛОТАМИ НА ПРИМЕРЕ ГРЕЧИХИ
ПОСЕВНОЙ (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH.)**

С.Э. Кароза

*Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, Брест, Беларусь
karoza01@ya.ru*

Эпикастастерон является одним из соединений, относящихся к группе brassinosterоидов, которые представляют собой особый класс растительных фитогормонов, встречающихся в растениях повсеместно. Эта группа включает большое количество (более 70) соединений, которые демонстрируют структурное сходство со стероидными гормонами насекомых, животных и человека. Молекулярно-генетический анализ мутантов, дефектных в отношении биосинтеза brassinosterоидов, показал, что они необходимы для нормального роста и развития растений. Эти данные, наряду с широким распространением этих соединений в растениях и их высокоэффективным действием, привели к признанию brassinosterоидов в качестве нового класса растительных гормонов [1]. Исследования их влияния на живые организмы описаны в многочисленных публикациях, особенно зарубежных, но наиболее полная русскоязычная обзорная монография опубликована сотрудниками ИБОХ НАН РБ [2]. В БрГУ имени А. С. Пушкина в ходе выполнения исследований в рамках задания ГПНИ в 2016–2020 гг. проводилась оценка действия brassinosterоидов на рост, развитие и биохимические показатели многих сельскохозяйственных культур, в результате которых были определены наиболее перспективные для применения в растениеводстве препараты [3]. Но в Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь, в настоящее время из brassinosterоидов включены всего два препарата, относящихся к большой группе регуляторов роста растений, – эпин и эпин плюс, в качестве действующего вещества содержащие, соответственно, эпибрасинолид и

гомобрассинолид [4]. Их применение, особенно препарата на основе гомобрассинолида, регламентировано для сравнительно небольшого спектра культур. Поэтому продолжение исследований по изучению действия БС и их производных на живые организмы остается актуальным как с теоретической, так и с практической точки зрения. К таким производным относятся и конъюгаты брассиностероидов с различными органическими кислотами, которые сами также обладают определенной биологической активностью, а некоторые, например, индолилуксусная кислота, сами являются гормонами.

В качестве тест-объекта нами была выбрана гречиха посевная, так как она является очень популярной крупяной культурой, особенно на территории стран бывшего СССР, благодаря своей высокой питательной ценности и удобству в приготовлении. Крупа содержит различные белки, которые хорошо сбалансированы по аминокислотному составу и содержат многие незаменимые аминокислоты. По составу аминокислот они близки к белкам сухого молока и куриных яиц. Основная их часть относится к легкорастворимой альбуминовой и глобулиновой фракции и поэтому легко усваивается человеком. Углеводы в основном представлены крахмалом. Для липидов гречневой крупы характерны низкие йодное и окислительное числа, а также высокое содержание ненасыщенных линолевой и линоленовой кислот. В ней содержится много витамина Е, который является антиоксидантом. Поэтому гречневая крупа долго хранится без потери качества, что очень важно при создании стабилизационных резервов продовольствия [5]. Из гречневой крупы и соломы выделены многие витамины: рутин, ниацин, рибофлавин и фолиевая кислота. Гречиха содержит много железа, меди, кобальта, марганца и других микроэлементов [6]. Она является также общепризнанным хорошим медоносом.

Но, несмотря на все выявленные достоинства, в Республике Беларусь посевные площади под эту культуру постоянно сокращались, и только в последние годы в связи с ажиотажным спросом ситуация немного улучшилась. Так, в 2014–2015 гг. гречиха высевалась на площади 14–20 тыс. га, хотя в 60-х гг. XX в. ее посевы занимали площадь более 300 тыс. га, в 70–80-х гг. – 100 тыс. га, в начале XXI в. (2003–2012 гг.) – от 8 до 44 тыс. га [7]. Одна из причин этого явления – невысокая урожайность гречихи, которая, по данным ЦСУ, не превышает 11,6 ц/га, хотя эта культура обладает гораздо более высоким потенциалом [8]. Низкая продуктивность объясняется многими причинами, в том числе теплолюбивостью и слабым развитием корневой системы этой культуры, что обуславливает ее сильную зависимость от погодных условий. Поэтому белорусские производители не всегда могут конкурировать с зарубежными, где климатические условия более благоприятны. Обеспечить большую стабильность роста и развития гречихи можно различными агротехническими мероприятиями. Сейчас актуально направление, основанное на стимуляции роста, иммунитета и урожайности растений с помощью экологически безопасных биологически активных веществ, к которым относятся и брассиностероиды, положительное влияние которых на гречиху уже было показано нами ранее [9]. Перспективным направлением изменения растворимости и повышения их биологической активности является модификация структуры молекул путем конъюгации с органическими кислотами. Такие конъюгаты были синтезированы, в том числе сотрудниками ИБОХ НАН РБ, но в доступных источниках данных о их влиянии на рост и развитие гречихи посевной нами обнаружено не было.

Первичной целью наших скрининговых исследований являлась оценка влияния эпикастерона и его конъюгатов с кислотами на показатели роста и развития гречихи посевной в лабораторных условиях. Для этого использовали растворы трех стероидных соединений (24-эпикастерон (ЭК), 2-моно-салицилат 24-эпикастерона (S23) и тетра-индолилацетат 24-эпикастерона (S31)) в концентрациях от 10^{-7} до 10^{-11} М. Оценивали показатели всхожести и энергии прорастания семян, а также влияние этих препаратов на морфометрические показатели развития гречихи при ее проращивании рулонным методом [10]. В качестве объекта исследования использовали семена районированного в Республике Беларусь детерминантного диплоидного сорта Влада прямостоячего типа. Средняя урожайность зерна – 16,5, а максимальная – 28,1 ц/га. Вегетационный период в среднем 83 дня. Технологические и крупяные качества хорошие. Масса 1000 семян в среднем 29,5 г. Характерен выровненный стеблестой, хорошее ветвление, дружное цветение и плодообразование. Обработку семян производили методом замачивания в растворах стероидов в течении 5 часов. Статистическую обработку осуществляли стандартными методами с использованием программы Microsoft Excel [11].

Анализ результатов показал, что исследуемые стероиды оказали неоднозначное влияние на энергию прорастания, всхожесть, длину корешков и высоту проростков гречихи в зависимости от используемой концентрации. Энергия прорастания в контроле составляла около 62 %, все три

вещества в концентрации 10^{-7} М незначительно снижали ее примерно до 60 %, растворы в концентрации 10^{-11} М или не оказывали влияния, или незначительно понижали этот показатель. Значимо повышали энергию прорастания растворы в среднем диапазоне концентраций, но для разных препаратов максимум наблюдался при разных концентрациях: для ЭК – 10^{-9} , для S23 – 10^{-8} , а для S31 – растворы с концентрациями 10^{-9} и 10^{-8} М оказывали практически одинаковое влияние, но более слабое, чем у двух вышеуказанных препаратов, где ее значение достигало 71 %, то есть почти на 10 % выше контроля с замачиванием в воде. Влияние на всхожесть было сходным, но менее выраженным, что вполне закономерно, так как этот показатель более стабилен по сравнению с энергией прорастания. Максимально повышало его значение использование растворов ЭК в концентрации 10^{-9} , S23 – 10^{-8} , а их обработка раствором S31 с концентрациями 10^{-9} и 10^{-8} М приводила к близким результатам. Растворы всех трех препаратов в концентрации 10^{-7} М вызывали отрицательный эффект, но понижали всхожесть не более чем на 1,5 %. Сравнительный анализ двух показателей показал, что энергию прорастания максимально повышало применение ЭК в концентрациях 10^{-10} и 10^{-9} М (на 13,0 и 15,4 % соответственно, а использование его конъюгатов дало менее выраженный эффект: для S23 максимальное повышение составило 13,6 % (концентрация 10^{-8} М), а для S31 – 11,3 % (концентрация 10^{-9} М) (рисунок 1). На всхожесть максимальное положительное влияние ЭК оказал при использовании раствора с концентрацией 10^{-9} М, а S23 и S31 – 10^{-8} М.



Рисунок 1 – Влияние эпикастастерона и его конъюгатов на морфометрические параметры гречихи посевной, % к контролю: –11, –10, –9, –8, –7 – молярные концентрации ЭК, S23 и S31

Анализ влияния препаратов на высоту побегов показал, что использование раствора ЭК приводило к повышению этого показателя во всех концентрациях, кроме максимальной (рисунок 2). Максимальное влияние оказал раствор в концентрации 10^{-9} и 10^{-10} М, увеличивший значения на 56,3 и 51,3 % соответственно. Влияние S23 отличалось: растворы в концентрациях 10^{-11} , 10^{-10} и 10^{-7} М ингибировали рост побегов (на 5,9, 5,8 и 19,1 % соответственно), а 10^{-9} и 10^{-8} М – стимулировали, но слабее, чем в варианте с ЭК (на 6,0 и 8,9 % соответственно). При использовании раствора S31 влияние было сходно с действием ЭК, но было выражено в меньшей степени: значение показателя увеличивалось во всех вариантах, при использовании всех концентраций, но наиболее сильно при использовании концентраций 10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} М (на 37,5, 23,4, и 21,0 % соответственно).

Влияние растворов на длину корней существенно отличалось от влияния на высоту побегов: две минимальные концентрации (10^{-11} и 10^{-10} М) вызывали или уменьшение этого показателя, или не влияли на него (рисунок 2). Замачивание семян в растворе ЭК вызывало снижение исследуемого показателя в трех минимальных концентрациях: 10^{-11} , 10^{-10} и 10^{-9} М (на 6,9, 5,3 и 1,6 % соответственно). При использовании раствора ЭК в концентрации 10^{-8} М длина увеличивалась на 17,9 % по сравнению с контролем. Влияние растворов S23 на длину корней было отрицательным в трех вариантах: 10^{-11} , 10^{-10} и 10^{-7} М (снижение по сравнению с контролем на

5,9, 4,8 и 9 %). В вариантах с концентрациями 10–9 и 10–8 М происходило повышение данного показателя на 16,9 и 23,7 % соответственно. Применение S31 дало отрицательный эффект в минимальной концентрации с уменьшением длины корней на 4,2 %. В остальных вариантах происходило увеличение длины корней, но значимым оно было только при использовании растворов в концентрациях 10–9 и 10–8 М (плюс 8,2 и 15,5 % к контролю).



Рисунок 2. – Влияние эпикастерона и его конъюгатов на морфометрические параметры гречихи посевной, % к контролю: –11, –10, –9, –8, –7 – молярные концентрации ЭК, S23 и S31

Для оценки влияния исследуемых соединений на массу побегов и корней их взвешивали по 10 штук, так как предыдущие исследования, проведенные нами на гречихе, показали, что один побег или корневая система имеют очень малую массу, что значительно увеличивает погрешность измерений при округлении данных. Результаты анализа показали, что влияние препаратов на высоту и массу побегов было не полностью идентичным.

Действие самого эпикастерона приводило к значительному повышению исследуемого показателя по сравнению с контролем в трех концентрациях: 10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} М (на 64,8, 59,8 и 27,7 % соответственно). Раствор в максимальной используемой концентрации уменьшал массу побегов, но очень незначительно – всего на 3 % (рисунок 3). Применение для замачивания семян раствора S23 также вызывало увеличение массы побегов в трех концентрациях: 10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} М, но по сравнению с контролем оно также было незначительным (на 0,6 и 9,0 и 4,7 % соответственно).

Растворы S23 в концентрациях 10–11 и 10–7 М ингибировали рост побегов (на 6,7 и 2,8 % соответственно). Влияние на данный показатель третьего препарата S31 вообще было выражено очень слабо. Минимальная и максимальная используемые концентрации незначительно уменьшали этот показатель по сравнению с контролем (на 2,0 и 3,7 % соответственно), при действии растворов с концентрациями 10–10 и 10–8 М разница составляла всего около 1 %, и только раствор в концентрации 10–9 М увеличивал массу проростков на 7,2 %.

Влияние стероидных препаратов на массу корней также не полностью соответствовало их действию на длину корешков. Действие самого эпикастерона приводило к плавному и постепенному повышению исследуемого показателя по сравнению с контролем в четырех концентрациях, начиная с минимальной: 10–11, 10–10, 10–9 и 10–8 М (на 11,1, 15,2, 36,7 и 66,1 % соответственно). Раствор в самой максимальной концентрации уменьшал массу корней на 9,6 % (рисунок 3). Применение для обработки раствора S23 также вызывало увеличение этого показателя по сравнению с контролем в трех концентрациях: 10–10, 10–9 и 10–8 М (на 2,0, 7,0 и 22,5 % соответственно). Растворы в самой минимальной и максимальной концентрациях незначительно ингибировали массу корней (на 3,8 и 4,1 % соответственно).

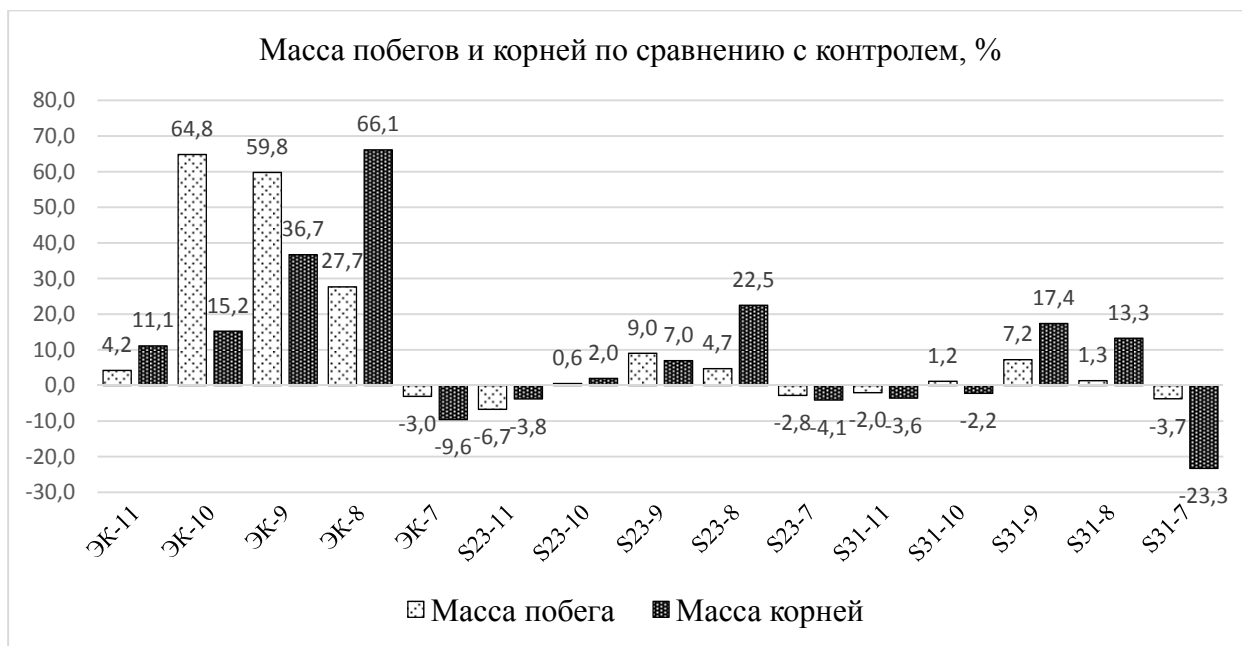


Рисунок 3. – Влияние эпикастестерона и его конъюгатов на массу побегов и корней гречихи посевной, % к контролю: –11, –10, –9, –8, –7 – молярные концентрации ЭК, S23 и S31

Положительное влияние на данный показатель S31 наблюдалось только в двух концентрациях: 10^{-9} и 10^{-8} М (на 17,4 и 13,3 % соответственно). Две минимальные используемые нами концентрации уменьшали массу корешков по сравнению с контролем примерно на 2 %. Раствор в максимальной концентрации достаточно сильно уменьшил массу корневой системы (на 23,3 %), хотя длину корней он незначительно увеличивал.

Проведенные исследования позволили прийти к следующему заключению: практически по всем показателям (энергия прорастания, всхожесть, длина и масса побегов и корней) максимальные стимулирующие свойства проявил брассиностероид эпикастестерон, а его конъюгаты в данном спектре концентраций действовали слабее, хотя общая закономерность в целом сохранялась. Растворы в минимальной исследованной концентрации (10^{-11} М) не давали значимого эффекта или незначительно уменьшали показатели, а в максимальной концентрации (10^{-7} М) оказывали достаточно сильное ингибирующее влияние на рост гречихи посевной сорта Влада. Таким образом, для продолжения исследований с использованием почвогрунта можно ограничиться тремя концентрациями всех трех препаратов: 10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} М.

Список использованных источников

1. Дерфлинг, К. Н. Гормоны растений / К. Н. Дерфлинг. – М. : Наука, 1989. – 351 с.
2. Хрипач, В. А. Брассиностероиды / В. А. Хрипач, Ф. А. Лахвич, В. Н. Жабинский. – Минск : Наука и техника, 1993. – 287 с.
3. Биологическая активность брассиностероидов и стероидных гликозидов / С. Э. Кароза [и др.] ; под общ. ред. С.Э. Карозы ; Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина. – Брест : БрГУ, 2020 – 260 с.
4. Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь / Л. В. Плешко [и др.]. – Минск : Земледелие и защита растений, 2014. – 628 с.
5. Кротов, А. Гречиха – *Fagopyrum* Mill. / А. Кротов // Культурная флора СССР. Кру-пяные культуры / А. Кротов ; под ред. П. М. Жуковского. – Ленинград : Колос, 1975. – С. 7–118.
6. Георгиевский, В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комиссаренко, Е. Л. Дмитрук. – Новосибирск : Наука, 1990. – 330 с.
7. Посевные площади основных сельскохозяйственных культур [Электронный ресурс]. – 2020. – Режим доступа: http://www.belstat.gov.by/ofitsialnaya-statistika/realny-sector-ekonomiki/selskoe-hozyaistvo/osnovnye-pokazateli-za-period-s-_po-_gody_6/valovoi-sbor-osnovnyh-selskoe-hozyaistvennyh-kultur/. – Дата доступа: 10.03.2021.
8. Нехаев, А. А. Высокие урожаи гречихи – каждый год / А. А. Нехаев, А. Н. Анохин. – Минск : Ураджай, 1988. – 39 с.

9. Кароза, С. Э. Влияние brassinостероидов на морфометрические показатели гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* Moench.) в лабораторных и полевых условиях (Брестская область) / С. Э. Кароза // Весн. Брэсц. Ўн-та. Сер. 5, Хімія. Біялогія. Навукі аб зямлі. – 2018. – № 2. – С. 38–44.

10. Семена зерновых культур. Сортные и посевные качества. Технические условия: СТБ 1073–97. – Введ. 01.10.97. – Мн., 1986. – 18 с.

11. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Ураджай, 1973. – 320 с.