

ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНАЛЬНЫХ И МИНЕРАЛЬНЫХ ОБРАБОТОК НА ПРОРАСТАНИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ГОРОХА ПОЛЕВОГО**М.А. Черныш², А.Ю. Тиханович¹, А.С. Жукевич¹, С.Н. Звонарев², А.А. Русакович²**¹*Национальный детский технопарк, Минск,*²*Белорусский государственный университет, Минск, chernyshmaryia@gmail.com*

В результате воздействия различных факторов окружающей среды, включая почвенное засоление и засуху, загрязнение воздуха токсическими соединениями, влияние высоких и низких температур, дефицит элементов минерального питания, присутствие гербицидов, растения постоянно подвергаются стрессу, что приводит к значительным потерям урожая по всему миру. В результате ответной реакции растительного организма на стресс в его клетках происходит генерация активных форм кислорода [1; 2], что может привести к развитию у растений окислительного стресса и даже к гибели целого организма [3]. Окислительный стресс также отмечается у растений при пересадке, пикировании рассады и черенковании, что во многом связано с механическими повреждениями при данных манипуляциях [4; 5]. В связи с чем перспективным направлением биотехнологии сельского хозяйства является разработка способов снижения стрессовой нагрузки на растительный организм, а также повышение их стрессоустойчивости.

Одним из способов уменьшения стрессирования растений является использование биоразлагаемых кассет и горшочков. Таким образом можно избежать механических повреждений при пересадке в открытый грунт рассады или черенков после укоренения. Также использование биоразлагаемых горшочков может способствовать решению экологической проблемы, связанной с загрязнением окружающей среды промышленными, сельскохозяйственными и бытовыми отходами, в частности пластиковыми аналогами кассет для выращивания растений.

Однако повлиять на рост растений и их стрессоустойчивость можно и другими способами. Так определяющим фактором для контроля ростовых процессов и клеточной дифференцировки при культивировании растений является содержание определенных фитогормонов и их соотношение [6; 7]. Одними из наиболее часто используемых в биотехнологии фитогормонов являются ауксины, они стимулируют клеточное деление и рост клеток растяжением, инициируют образование придаточных и боковых корней [8]. Благодаря данным эффектам ауксины, в частности индолил-3-масляную кислоту (ИМК), активно используют в питомниках при вегетативном размножении декоративных кустарников. Однако в последнее время набирает популярность применение еще одной группы фитогормонов – brassinosteroidов (БС). БС, как и ауксины, участвуют в модификации ростовых процессов, а также обладают уникальными характеристиками, такими как повышение устойчивости к стрессовым воздействиям [9; 10]. Было показано прямое участие стероидных гормонов в активации экспрессии генов, связанных с ответом на стресс. Под действием БС отмечается повышение активности антиоксидантных ферментов, уменьшение содержания активных форм кислорода и снижение общей проницаемости мембран [10]. Одним из наиболее эффективных и часто используемых для биотехнологических манипуляций БС является 24-эпибрасинолид (ЭБ), который по литературным данным также должен оказывать стресс-протекторное действие и в условиях засухи [11].

Так, **целью данной работы** стало сравнение эффективности использования фитогормональных и минеральных обработок при изготовлении биоразлагаемых горшочков, а также оценка воздействия обработок на прорастание и морфометрические параметры гороха полевого в контрольных условиях и под действием засухи.

В качестве объекта настоящего исследования был выбран горох полевой (*Pisum arvense* L.), который активно используется в сельском хозяйстве. Также горох является модельным сельскохозяйственным видом из-за быстрого роста и неприхотливости в выращивании.

Для сравнения эффективности использования фитогормональных и минеральных обработок в работе использовались следующие варианты пропиток биоразлагаемых горшочков: 100 % раствор макро- и микросолей по прописи Мурашиге и Скуга (100 % среда МС) [12]; 10^{-7} М ЭБ; 50 мг/л (эквивалентно $2,5 \cdot 10^{-4}$ М) ИМК; а также сочетание минеральных солей по МС и ЭБ или ИМК в аналогичных концентрациях. В качестве контрольного варианта выступала обработка дистиллированной водой.

Перед посадкой семена гороха обрабатывались в течение 15 минут 20 % раствором коммерческого препарата «Белизны», в составе которого содержится гипохлорит натрия. Затем осуществ-

лялся отмыв семян от стерилизующего раствора проточной водой до полного удаления остатков дезинфектанта. После этого семена гороха высаживались в стерильный почвенный субстрат. Стерилизация почвенного субстрата (верховой раскисленный торф (рН 5,5-6,5) и вермикулит крупной фракции в соотношении 1:1) осуществлялась посредством автоклавирования (Daihan LabTech, Корея) в течение 40 минут при 121°C и 1,15 атм. После посадки почвенный субстрат в каждом горшочке был увлажнен равным объемом воды.

Проращивание и дальнейшее культивирование растений осуществлялось в климатической камере (Jeio Tech, Корея), где были созданы стандартизированные условия для выращивания гороха: искусственное 16-ти часовое освещение при температуре $23 \pm 0,5$ °C и относительная влажности воздуха 60 ± 2 %. На протяжении всего эксперимента полив был полностью стандартизирован и не включал в себя элементов минерального питания или фитогормонов.

Учет прорастания семян *Pisum arvense* осуществлялся на 4, 5, 7 и 10 сутки с момента посадки, полученные результаты представлены в таблице. Данные полученные на 4 сутки культивирования демонстрируют повышение эффективности прорастания семян при обработке горшочков растворами содержащими в своем составе 10^{-7} М ЭБ. Эффект был максимальным при совместной обработке раствором макро- и микросолей и ЭБ и достигал увеличения данного показателя на 43 % относительно контрольной группы. В тоже время использование растворов ИМК приводило к снижению прорастания гороха на 30 % по сравнению с контролем.

Таблица – Динамика прорастания семян *Pisum arvense* в зависимости от варианта обработки

Вариант пропитки	Прорастание, %*			
	4 сутки	5 сутки	7 сутки	10 сутки
Контроль	35	65	80	90
МС	40	65	65	75
ЭБ	45	85	85	95
ИМК	30	75	85	95
МС + ИМК	25	75	85	90
МС + ЭБ	50	80	85	85

* – стандартное отклонение всех вариантов не превышало 3%

На 5 сутки культивирования наблюдался резкий скачок в прорастании семян, так при обработке ЭБ данный показатель достигал 85 %, а при добавлении ИМК наблюдалось увеличение прорастания до 75 %, а к 7 суткам проращивания семян гороха все фитогормональные обработки продемонстрировали аналогичный результат всхожести в 85 %. На 10 сутки всхожесть семян при обработке фитогормонами (ЭБ и ИМК) достигала 95 %, однако следует отметить, что полученные проростки также отличались и по морфометрическим параметрам. Так проростки, полученные в горшочках предварительно обработанных раствором ЭБ, МС и МС с добавлением ИМК были длиннее по сравнению с другими вариантами. При этом удлинение побега при обработке раствором содержащим ИМК достигалось за счет удлинения междоузлий, у данной группы растений были слабо развиты усы и наблюдалась склонность к полеганию. В тоже время обработка ЭБ приводила к развитию нормальной морфологии проростка. Однако совместная обработка ЭБ и раствором солей по МС, не смотря на высокий процент прорастания на ранних этапах, не привела к достоверному удлинению побегов.

Также были получены данные по влиянию фитогормональных и минеральных обработок на рост проростков гороха полевого в условиях засухи. Методика подготовки растительного материала и тестируемые обработки были аналогичны описанным ранее. Во всех протестированных вариантах увлажнение почвенного субстрата и дальнейший ежедневный полив проростков осуществлялся строго стандартизированно, условия засухи имитировались отсутствием полива на 7, 8 и 9 сутки с момента посадки семян. Фенотипические проявления проростков в ответ на засуху представлены на рисунке.

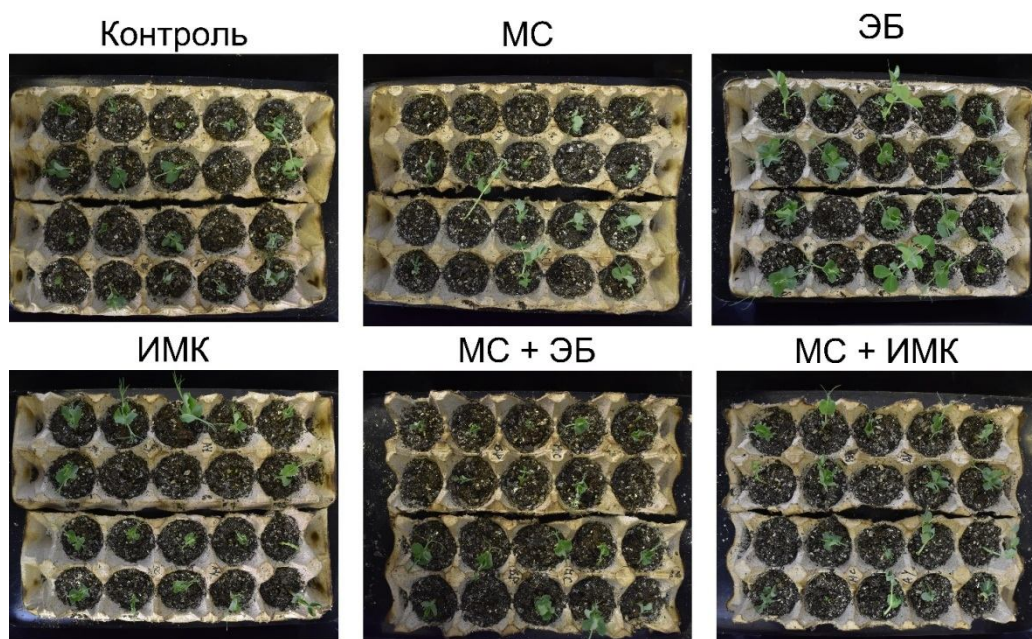


Рисунок – Внешний вид 10-дневных проростков гороха полевого, подвергшихся искусственной засухе (контроль – H_2O ; MS – раствор макро- и микроэлементов по прописи Мурашиге и Скуга; ЭБ – 24-эпибрасинолид; ИМК – индолил-3-масляная кислота)

Таким образом в условиях засухи контрольная группа растений продемонстрировала типичный для дефицита влаги фенотип, проростки гороха почти полностью утратили тургор, часть листьев засохла. Аналогичный внешний вид был отмечен и у проростков, выращенных в кассетах обработанных растворами солей по MS и их комбинацией с ИМК. При обработке ИМК и ЭБ совместно с солями по MS полной потери тургора у гороха не наблюдалось, однако часть листьев также испытывали дефицит влаги. Растения, выращенные в кассетах обработанных ЭБ в свою очередь, не продемонстрировали стрессового фенотипа, потери тургора обнаружено не было. При этом растения продолжали расти и имели наибольшую длину побега, до 3-х раз превышающую данный показатель у растений других вариантов.

Так, по результатам наблюдений можно сделать вывод о стимуляции не только прорастания семян и активации ростовых процессов у растений гороха полевого при обработке раствором ЭБ в концентрации 10^{-7} M в контрольных условиях, но и о стресс-протекторном действии ЭБ в ответ на засуху.

Список использованных источников

1. Demidchik, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology / V. Demidchik // *Environmental and experimental botany*. – 2015. – Vol. 109. – P. 212–228.
2. Reactive oxygen signaling and abiotic stress / G. Miller [et al.] // *Physiologia Plantarum*. – 2008. – Vol. 133. – P. 481–489.
3. Halliwell, H. and Gutteridge, J.M.C. Free radicals in biology and medicine / H. Halliwell, J.M.C. Gutteridge – United Kingdom: Oxford University Press, 2015. – P. 40–290.
4. The course of mechanical stress: types, perception, and plant response / M. Kouhen [et al.] // *Biology*. – 2023. – Vol. 12. – P. 217.
5. Mechanical stress acclimation in plants: Linking hormones and somatic memory to thigmomorphogenesis / E. Brenya // *Plant Cell Environ.* – 2022. – Vol. 45, № 4. – P.989-1010.
6. Kudoyarova, G. Phytohormones 2020 / G. Kudoyarova // *Biomolecules*. – 2022. – Vol. 12, № 9. – P. 1305.
7. Phytohormones as growth regulators during abiotic stress tolerance in plants / A.E.L. Sabagh [et al.] // *Frontiers in Agronomy*. – 2022. – Vol. 4. – P. 1-16.
8. Moore, T.C. Auxins. In: *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones* / Springer: New York, NY, USA, 1979. – P. 32-89
9. Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses / T.M. Nolan [et al.] // *Plant Cell*. – 2020. – Vol. 32. – P. 295–318.

10. Khripach, V.A., Zhabinskii, V.N., de Groot, A.E. Brassinosteroids: a new class of plant hormones; Academic Press: San Diego, USA, 1999. – pp. 456.

11. Contents of endogenous brassinosteroids and the response to drought and/or exogenously applied 24-epibrassinolide in two different maize leaves / H. Markova [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1-22.

12. Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant*. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.