

УДК 577.175.1: 57.085

Виктор Викторович Коваленко

*ст. преподаватель каф. биологических и химических технологий
Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина*

Viktar Kavalenka

*Senior Lecturer of the Department of Biological and Chemical Technologies
of Brest State A. S. Pushkin University*

e-mail: kvv0407@rambler.ru

ВЛИЯНИЕ ТЕТРАСУКЦИНАТА 24-ЭПИКАСТАСТЕРОНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ТИМОФЕЕВКИ ЛУГОВОЙ (*PHLEUM PRATENSE L.*)*

Изучено влияние тетрасукцината 24-эпикастастерона на морфометрические и физиолого-биохимические параметры тимофеевки луговой в лабораторных условиях. Исследовано действие различных концентраций тетрасукцината 24-эпикастастерона на показатели энергии прорастания, всхожести, длины корня и длины побега проростков тимофеевки луговой. В вегетационном лабораторном эксперименте изучено влияние тетрасукцината 24-эпикастастерона на всхожесть семян, длину корня, длину побега, сырую и сухую массу побегов, содержание хлорофилла а, хлорофилла b, каротиноидов, активность каталазы. Установлено, что более отзывчивыми к действию тетрасукцината 24-эпикастастерона являются показатели длины корня, длины побега, сырой массы побегов, содержание фотосинтетических пигментов.

Ключевые слова: тимофеевка луговая, энергия прорастания, всхожесть, брассиностероиды, 24-эпикастастерон, конъюгаты 24-эпикастастерона, хлорофилл, каротиноиды, каталаза.

The Effect of Tetrasuccinate of 24-Epicasterone on Morphometric and Physiological-Biochemical Parameters of Timothy (*Phleum Pratense L.*)

The influence of tetrasuccinate of 24-epicasterone on morphometric and physiological-biochemical parameters of Timothy in laboratory conditions was studied. The effect of various concentrations of tetrasuccinate of 24-epicasterone on the indicators of germination energy, germination, root length and shoot length of Timothy seedlings was revealed. In a vegetative laboratory experiment, the effect of tetrasuccinate of 24-epicasterone on seed germination, root length, shoot length, raw and dry mass of shoots, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, catalase activity was studied. It was found that the indicators of root length, shoot length, raw mass of shoots, and the content of photosynthetic pigments are more responsive to the action of tetrasuccinate of 24-epicasterone.

Key words: Timothy, germination energy, germination, brassinosteroids, 24-epicasterone, conjugates of 24-epicasterone, chlorophyll, carotenoids, catalase.

Введение

Стероидные соединения весьма распространены в живой природе. Гормонами роста растений стероидной природы являются брассиностероиды. В основе их действия лежит стимуляция естественных защитных сил растительного организма, повышение фотосинтетической и анаболической активности, улучшение приспособительных реакций и иммунного статуса [1].

Брассиностероиды оказывают влияние на различные физиологические функции растений, в частности синтез нуклеиновых кислот и белка [2]. Поэтому интерес к изучению брассиностероидов существует у ученых разных научных школ.

*Работа выполнена в рамках НИР «Оценка влияния природных брассиностероидов и их конъюгатов с кислотами на морфометрические и физиолого-биохимические параметры сельскохозяйственных и декоративных растений» подпрограммы 2.3 «Химические основы процессов жизнедеятельности (Биоорхимия)» ГПНИ «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» на 2021–2025 гг.

В настоящее время актуальными являются исследования взаимосвязи структуры и биологической активности brassinosterоидов [3], метаболизма brassinosterоидов в растениях [4], практического применения brassinosterоидов с целью повышения продуктивности сельскохозяйственных растений [5]. Так, в работе [5] систематизированы данные о влиянии brassinosterоидов на растения томата, перца, картофеля, огурца, сахарной свеклы, а также на различные плодовые культуры.

В лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси синтезированы конъюгаты brassinosterоидов с кислотами. Рострегулирующее и антистрессовое действие соединений данного ряда изучается на факультете естествознания Бестского государственного университета имени А. С. Пушкина.

Нами исследована рострегулирующая активность 24-эпикастастерона, 2-моносалицилата 24-эпикастастерона и тетраиндолилацетата 24-эпикастастерона в отношении морфометрических и физиолого-биохимических параметров тимофеевки луговой [6], а также протекторная активность 24-эпикастастерона и тетраиндолилацетата 24-эпикастастерона в отношении токсического действия ионов свинца [7].

Большей эффективностью и универсальностью действия на растения тимофеевки луговой характеризуется 24-эпикастастерон. Данное соединение демонстрирует большой стимулирующий эффект в отношении морфофизиологических и биохимических показателей тимофеевки луговой по сравнению с 2-моносалицилатом 24-эпикастастерона и тетраиндолилацетатом 24-эпикастастерона [6].

Установлено, что растения, которые подверглись токсическому действию ионов свинца и прошедшие предпосевную обработку 24-эпикастастероном и тетраиндолилацетатом 24-эпикастастероном, по сравнению с растениями, которые подверглись действию ионов свинца, но не обрабатывались стероидными соединениями, демонстрируют некоторые изменения физиолого-биохимического статуса, о чем свидетельствует увеличение содержания хлорофилла *b* и каротиноидов. При этом активность каталазы, являющейся основным ферментом антиоксидантной системы растений, изменяется незначительно [7].

Целью данного этапа исследования является изучение рострегулирующего действия тетраасукцината 24-эпикастастерона на морфометрические и физиолого-биохимические показатели тимофеевки луговой в лабораторных условиях.

Материал и методы исследования

Тетрасукцинат 24-эпикастастерона синтезирован в лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси.

Исследование рострегулирующей активности тетраасукцината 24-эпикастастерона проводилось на культуре тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.) сорта Воля.

В первой серии эксперимента исследовано влияние различных концентраций тетраасукцината 24-эпикастастерона на показатели энергии прорастания, всхожести, длины корня и длины побега проростков тимофеевки луговой в лабораторных условиях. С целью предпосевной обработки семена замачивали в растворах данного соединения с концентрациями 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} М либо в воде (контроль) в течение пяти часов.

Проращивание семян проводилось в соответствии с ГОСТ 12038–84 [8]. Повторность опыта четырехкратная. Энергия прорастания определялась на четвертые сутки, всхожесть – на восьмые сутки. На восьмые сутки также определялась длина корня и длина побега проростков.

Во второй серии эксперимента исследовано влияние тетраасукцината 24-эпикастастерона в концентрациях 10^{-7} М и 10^{-10} М на всхожесть семян, длину корня, длину побега, сырую и сухую массу побегов, содержание основных фотосинтетических пиг-

ментов (хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов) и активность каталазы в вегетационном лабораторном эксперименте.

С целью предпосевной обработки семена замачивали в растворах тетраэтилоксиэтил-24-эпикастастерона указанных выше концентраций либо в воде (контроль) в течение пяти часов, после чего высаживали в почвогрунт в пластиковые контейнеры и выращивали в лабораторных условиях вегетационного эксперимента.

Повторность опыта четырехкратная. На восьмые сутки эксперимента определяли всхожесть, длину корня, длину побега проростков, сырую массу побегов. Сухую массу побегов определяли после их высушивания при комнатной температуре в течение двух недель.

Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрическим методом [9; 10], активность каталазы – методом М. А. Королук [11].

Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с общепринятыми методиками биологической статистики согласно П. Ф. Рокицкому [12] с использованием программы Microsoft Excel.

Установление достоверности различий от контроля проводили нахождением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Влияние различных концентраций тетраэтилоксиэтил-24-эпикастастерона на морфометрические показатели тимофеевки луговой в лабораторном эксперименте.

Данные о влиянии тетраэтилоксиэтил-24-эпикастастерона на морфометрические показатели тимофеевки луговой в лабораторном эксперименте приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние тетраэтилоксиэтил-24-эпикастастерона на морфометрические показатели тимофеевки луговой в лабораторном эксперименте

Вариант опыта	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина корня, мм	Длина побега, мм
Контроль	53,0 ± 2,50	66,0 ± 2,37	15,82 ± 0,61	22,32 ± 0,58
10 ⁻¹¹ М	54,0 ± 2,49	66,0 ± 2,37	13,63 ± 0,67*	21,84 ± 0,72
10 ⁻¹⁰ М	47,0 ± 2,50	54,0 ± 2,49***	17,08 ± 0,87	23,74 ± 0,73
10 ⁻⁹ М	42,0 ± 2,47**	53,0 ± 2,50***	11,89 ± 0,58***	20,03 ± 0,71*
10 ⁻⁸ М	54,0 ± 2,49	67,0 ± 2,35	17,21 ± 0,73	21,96 ± 0,68
10 ⁻⁷ М	48,0 ± 2,50	61,0 ± 2,44	17,48 ± 0,72	22,21 ± 0,65
10 ⁻⁶ М	48,0 ± 2,50	62,0 ± 2,43	11,63 ± 0,65***	20,89 ± 0,90

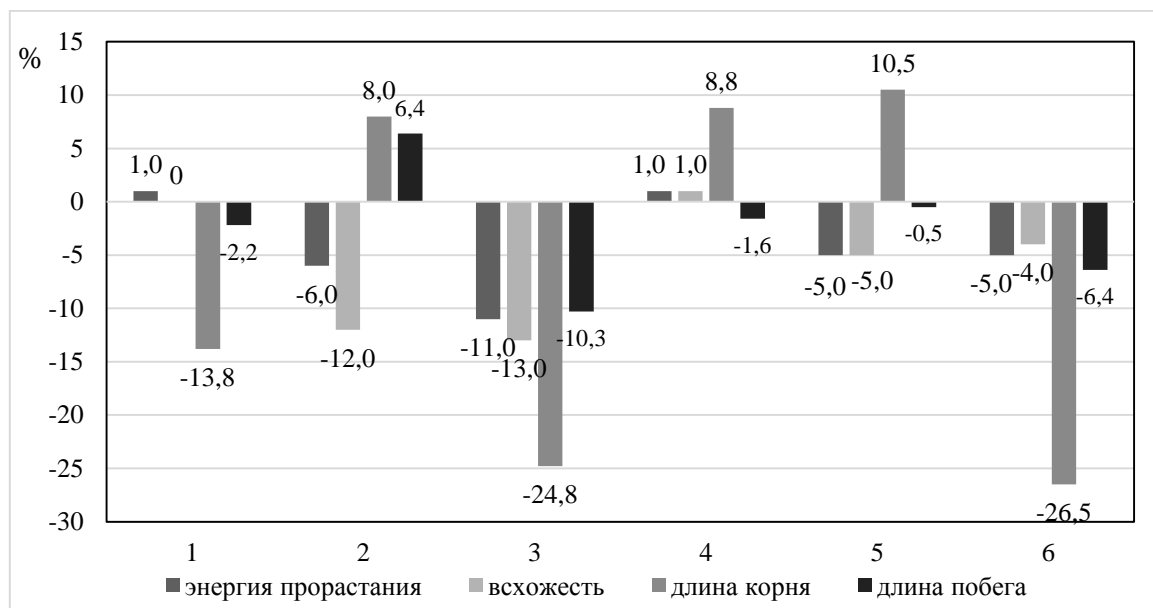
Примечание – * – достоверно при $P \leq 0,05$; ** – при $P \leq 0,01$; *** – при $P \leq 0,001$.

В отношении показателя энергии прорастания тетраэтилоксиэтил-24-эпикастастерона стимулирующего эффекта не проявляет. Достоверный ингибирующий эффект наблюдался в варианте опыта с концентрацией 10⁻⁹ М.

Уменьшение показателя энергии прорастания в этом варианте опыта по сравнению с контролем составляет 11 % (рисунок 1).

В отношении показателя всхожести тетраэтилоксиэтил-24-эпикастастерона стимулирующего эффекта также не проявляет.

Достоверный ингибирующий эффект наблюдался в варианте опыта с концентрациями 10⁻⁹ М и 10⁻¹⁰ М. Уменьшение показателя энергии прорастания в опыте по сравнению с контролем составляет 13 и 12 % соответственно.



1 – 10^{-11} М; 2 – 10^{-10} М; 3 – 10^{-9} М; 4 – 10^{-8} М; 5 – 10^{-7} М; 6 – 10^{-6} М

Рисунок 1 – Влияние тетрасукцината 24-эпикастестерона на морфометрические показатели тимфеевки луговой в лабораторном эксперименте, % относительно контроля

Увеличение длины корня под действием тетрасукцината 24-эпикастестерона наблюдается в вариантах опыта сконцентрациями 10^{-7} М, 10^{-8} М и 10^{-10} М. Наибольший стимулирующий эффект наблюдается в варианте опыта с концентрацией 10^{-7} М. Однако достоверный стимулирующий эффект соединения ни в одном варианте опыта зафиксирован не был. В вариантах опыта с концентрациями 10^{-6} М, 10^{-9} М и 10^{-11} М наблюдается достоверное уменьшение длины корня.

Наибольший ингибирующий эффект зафиксирован в варианте опыта с концентрацией 10^{-6} М. Уменьшение длины корня по сравнению с контролем в данном варианте опыта составляет 26,5 % (рисунок 1).

Увеличение длины побега по сравнению с контролем наблюдается только в варианте опыта с концентрацией тетрасукцината 24-эпикастестерона 10^{-10} М. Прирост длины побега составляет 6,4 % по сравнению с контролем. В остальных вариантах опыта наблюдается уменьшение длины побега. Достоверный ингибирующий эффект наблюдается при использовании концентрации 10^{-9} М. Уменьшение длины побега по сравнению с контролем составляет 10,3 %.

Влияние различных концентраций тетрасукцината 24-эпикастестерона на морфометрические и физиолого-биохимические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте.

Данные о влиянии тетрасукцината 24-эпикастестерона на морфометрические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте приведены в таблице 2.

В отношении показателя всхожести тетрасукцинат 24-эпикастестерона стимулирующего эффекта не проявляет. Достоверный ингибирующий эффект наблюдается в варианте опыта с концентрацией 10^{-7} М. Уменьшение показателя всхожести в данном варианте опыта по сравнению с контролем составляет 15 % (рисунок 2).

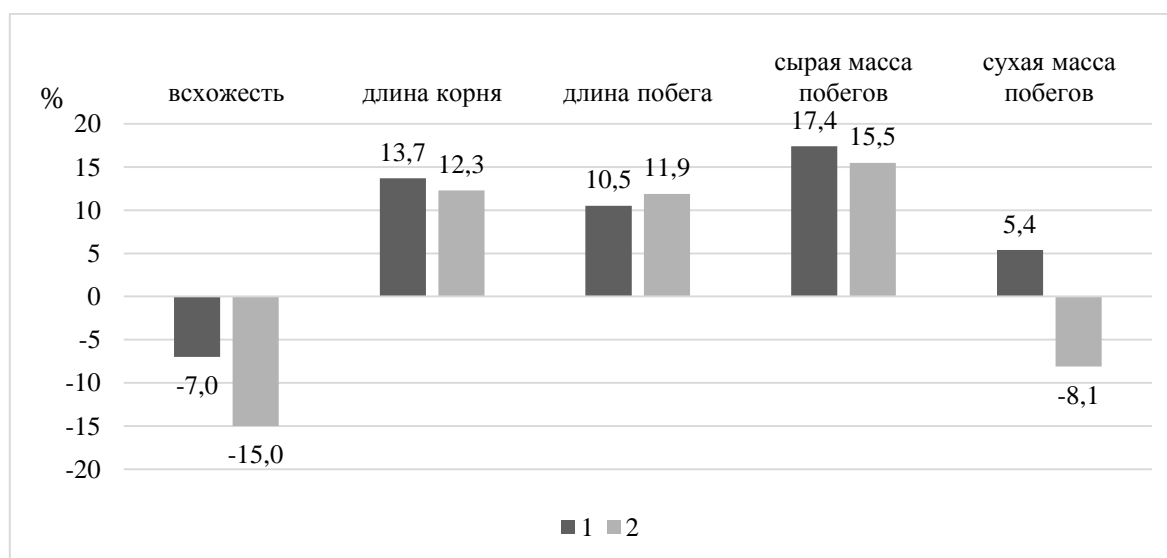
Увеличение длины корня под действием тетрасукцината 24-эпикастестерона наблюдается в обоих вариантах опыта. Большой стимулирующий эффект отмечается

в варианте опыта с концентрацией 10^{-10} М. Прирост длины корня в данном варианте опыта по сравнению с контролем составляет 13,7 % (рисунок 2). Однако достоверный стимулирующий эффект соединения в ходе эксперимента в отношении данного показателя зафиксирован не был.

Таблица 2 – Влияние тетраэукцината 24-эпикастастерона на морфометрические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте

Вариант опыта	Всхожесть, %	Длина корня, мм	Длина побега, мм	Сырая масса, побегов, г	Сухая масса, побегов, г
Контроль	$51,0 \pm 2,89$	$17,53 \pm 1,01$	$29,98 \pm 1,44$	$0,0155 \pm 0,0007$	$0,0037 \pm 0,0002$
10^{-10} М	$44,0 \pm 2,87$	$19,93 \pm 1,09$	$33,13 \pm 1,39$	$0,0182 \pm 0,0008$	$0,0039 \pm 0,0002$
10^{-7} М	$36,0 \pm 2,77^{***}$	$19,68 \pm 1,08$	$33,55 \pm 1,24$	$0,0179 \pm 0,0009$	$0,0034 \pm 0,0002$

Примечание – *** – при $P \leq 0,001$.



1 – 10^{-10} М; 2 – 10^{-7} М

Рисунок 2 – Влияние тетраэукцината 24-эпикастастерона на морфометрические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте, % относительно контроля

Увеличение длины побега под действием тетраэукцината 24-эпикастастерона также наблюдается в обоих вариантах опыта, но является незначительным и не является статистически достоверной тенденцией. Так, прирост длины побега в варианте опыта с концентрацией 10^{-7} М составляет 11,9 % (рисунок 2).

Увеличение сырой массы побегов наблюдается в обоих вариантах опыта. В варианте опыта с концентрацией 10^{-10} М прирост сырой массы составляет 17,4 % по сравнению с контролем. Однако достоверный стимулирующий эффект соединения в ходе эксперимента в отношении данного показателя зафиксирован не был.

В варианте опыта с концентрацией 10^{-7} М наблюдается незначительное уменьшение (8,1 %), а в варианте опыта с концентрацией 10^{-10} М – незначительное увеличение сухой массы побегов (5,4 %) по сравнению с контролем (рисунок 2). Отмеченная тенденция не является статистически достоверной.

Данные о влиянии тетраэукцината 24-эпикастастерона на физиолого-биохимические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте приведены в таблице 3.

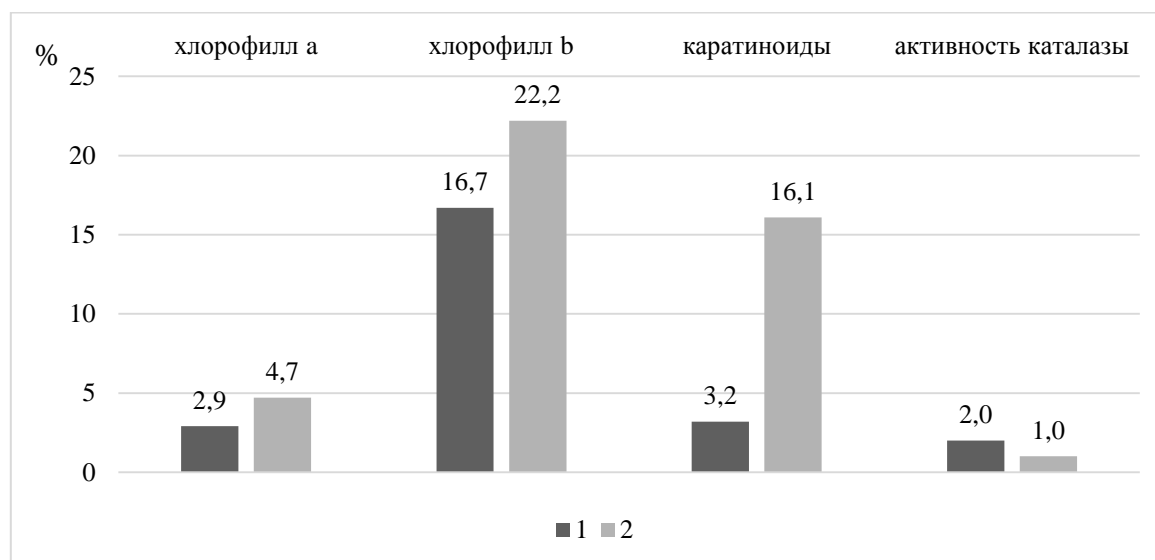
Таблица 3 – Влияние тетраэукцината 24-эпикастастерона на физиолого-биохимические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте

Вариант опыта	Содержание пигментов, мг/г			Активность каталазы, мкат/л
	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	
Контроль	1,517 ± 0,142	0,180 ± 0,012	0,062 ± 0,008	846,2 ± 4,1
10 ⁻¹⁰ М	1,561 ± 0,116	0,210 ± 0,018	0,064 ± 0,008	863,1 ± 4,4
10 ⁻⁷ М	1,588 ± 0,131	0,220 ± 0,016	0,072 ± 0,009	854,7 ± 4,3

Увеличение содержания фотосинтетических пигментов, отмечаемое в обоих вариантах опыта, не является статистически достоверным. В варианте с концентрацией 10⁻⁷ М содержание хлорофилла *a* увеличивается на 4,7 %, содержание хлорофилла *b* – на 22,2 %, содержание каротиноидов – на 16,1 % по сравнению с контролем (рисунок 3).

В варианте с концентрацией 10⁻¹⁰ М содержание хлорофилла *a* увеличивается на 2,9 %, содержание хлорофилла *b* – на 16,7 %, содержание каротиноидов – на 3,2 % по сравнению с контролем.

Одновременно несущественными являются различия в активности каталазы, которые составляют 1,0 и 2,0 % по сравнению с контролем в вариантах опыта 10⁻⁷ М и 10⁻¹⁰ М соответственно.



1 – 10⁻¹⁰ М; 2 – 10⁻⁷ М

Рисунок 3 – Влияние тетраэукцината 24-эпикастастерона на физиолого-биохимические показатели тимфеевки луговой в вегетационном лабораторном эксперименте, % относительно контроля

Заклучение

Проведенное исследование показало, что тетраэукцинат 24-эпикастастерона характеризуется незначительным стимулирующим эффектом в отношении морфометрических и физиолого-биохимических показателей тимфеевки луговой.

Более отзывчивыми к действию тетраэукцината 24-эпикастастерона являются показатели длины корня, длины побега, сырой массы побегов, а также содержание фотосинтетических пигментов.

В ходе вегетационного лабораторного эксперимента зафиксировано, что предпосевная обработка семян тимфеевки луговой тетраэукцинатом 24-эпикастастерона спо-

способствует увеличению перечисленных выше показателей по сравнению с растениями, не прошедшими предпосевную обработку.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Хрипач, В. А. Брассиностероиды и урожай. Экологически дружественный подход к решению проблемы производства высококачественной продукции / В. А. Хрипач // Химико-биологические технологии и экологическая безопасность : материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 15–17 мая 2001 г. / под ред. И. И. Лиштвана [и др.]. – Минск, 2001. – С. 121–130.
2. Bajguz, A. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris* / A. Bajguz // Plant Physiology and Biochemistry. – 2000. – Vol. 38, iss. 3. – P. 209–215.
3. Structure-activity relationship of brassinosteroids and their agricultural practical usages / Jinna Liu [et al.] // Steroids. – 2017. – Vol. 124. – P. 1–17.
4. Bajguz, A. Metabolism of brassinosteroids in plants / A. Bajguz // Plant Physiology and Biochemistry. – 2007. – Vol. 45. – P. 95–107.
5. Ali, B. Practical applications of brassinosteroids in horticulture – Some field perspectives / B. Ali // Scientia Horticulturae. – 2017. – Vol. 225. – P. 15–21.
6. Коваленко, В. В. Влияние эпикастастерона и его конъюгатов на морфометрические и физиолого-биохимические параметры тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.) / В. В. Коваленко // Весн. Брэсц. ун-та. Сер. 5, Біялогія. Навукі аб зямлі. – 2022. – № 1. – С. 22–30.
7. Коваленко, В. В. Протекторная активность 24-эпикастастерона и тетраиндолилацетата 24-эпикастастерона в отношении токсического действия ионов свинца на культуре тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.) / В. В. Коваленко // Весн. Брэсц. ун-та. Сер. 5, Біялогія. Навукі аб зямлі. – 2023. – № 1. – С. 31–40.
8. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038–84. Введ. 01.07.86. – М. : Стандартинформ, 2011. – 29 с.
9. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по фотосинтезу / В. Ф. Гавриленко, Т. В. Жигалова ; под ред. И. П. Ермакова. – М. : Академия, 2003. – 256 с.
10. Шульгин, И. А. Расчет содержания пигментов с помощью номограмм / И. А. Шульгин, А. А. Ничипорович // Хлорофилл : сб. науч. ст. ; под ред. А. А. Шлыка. – Минск : Наука и техника, 1974. – С. 121–136.
11. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
12. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Ураджай, 1973. – 320 с.

REFERENCES

1. Khripach, V. A. Brassinosteroidy i urozhaj. Ekologichieskij druzhestviennyj podkhod k riesheniju problimy proizvodstva vysokokachiestvennoj produkcii / V. A. Khripach // Khimiko-biologichieskije tiekhnologii i ekologichieskaja biezopasnost' : materialy miezhdu-nar. nauch.-prakt. konf., Minsk, 15–17 maja 2001 g. ; pod ried. I. I. Lishtvana [i dr.]. – Minsk, 2001. – S. 121–130.
2. Bajguz, A. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris* / A. Bajguz // Plant Physiology and Biochemistry. – 2000. – Vol. 38, iss. 3. – P. 209–215.

3. Structure-activity relationship of brassinosteroids and their agricultural practical usages / Jinna Liu [et al.] // *Steroids*. – 2017. – Vol. 124. – P. 1–17.
4. Bajguz, A. Metabolism of brassinosteroids in plants / A. Bajguz // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2007. – Vol. 45. – P. 95–107.
5. Ali, B. Practical applications of brassinosteroids in horticulture – Some field perspectives / B. Ali // *Scientia Horticulturae*. – 2017. – Vol. 225. – P. 15–21.
6. Kovalienko, V. V. Vlijanije epikastasterona i jeho konjugatov na morfometričeskije i fiziologo-biokhimičeskije parametry timofiejevki lugovoj (*Phleum pratense* L.) / V. V. Kovalienko // *Viesn. Besc. un-ta. Sier. 5, Bijalohija. Navuki ab ziamli*. – 2022. – № 1. – S. 22–30.
7. Kovalienko, V. V. Protektornaja aktivnost' 24-epikastasterona i tetraindolilacetata 24-epikastasterona v otnoshenii toksičieskogo diejstvija ionov svinca na kul'turie timofiejevki lugovoj (*Phleum pratense* L.) / V. V. Kovalienko // *Viesn. Besc. un-ta. Sier. 5, Bijalohija. Navuki ab ziamli*. – 2023. – № 1. – S. 31–40.
8. Siemiena siel'skokhoziajstviennykh kul'tur. Mietody opriedielienija vskhozhesti : GOST 12038–84. Vvied. 01.07.86. – M. : Standartinform, 2011. – 29 s.
9. Gavrilienko, V. F. Bol'shoj praktikum po fotosintezu / V. F. Gavrilienko, T. V. Zhihalova ; pod ried. I. P. Jermakova. – M. : Akadiemija, 2003. – 256 s.
10. Shul'gin, I. A. Raschiot sodierzhanija pigmientov s pomoshchju nomogramm / I. A. Shul'gin, A. A. Nichiporovich // *Khlorofill : sb. nauch. st. ; pod ried. A. A. Shlyka*. – Minsk : Nauka i tekhnika, 1974. – S. 121–136.
11. Mietod opriedielienija aktivnosti katalazy / M. A. Koroliuk [i dr.] // *Lab. dielo*. – 1988. – № 1. – S. 16–19.
12. Rokickij, P. F. Biologičieskaja statistika / P. F. Rokickij. – Minsk : Uradzhaj, 1973. – 320 s.

Рукапіс наступіў у рэдакцыю 11.09.2024