

УДК 577.175.1: 57.084.5

**Яна Валерьевна Хомюк¹, Александр Петрович Колбас²,
Раиса Павловна Литвиновская³**

¹магистр биол. наук, аспирант 3-го года обучения каф. химии
Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина

²канд. биол. наук, доц., нач. Центра экологии
Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина

³д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник
Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси

Yana Khamiuk¹, Aliaksandr Kolbas², Raisa Litvinovskaya³

¹Master of Biological Sciences,
3-rd Year Post-Graduate Student of the Department of Chemistry
of the Brest State A. S. Pushkin University

²Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Ecology Center
of the Brest State A. S. Pushkin University

³Doctor of Chemical Sciences, Chief Researcher at the Laboratory of Steroid Chemistry
at the Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus
e-mail: 1archibasovayana@gmail.com

ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА И ЕГО ЭФИРОВ С СЕРНОЙ КИСЛОТОЙ НА РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ И БИОМАССУ *TRIFOLIUM PRATENSE* L.

Впервые изучено действие 24-эпибрасинолида и его натриевых солей эфиров с серной кислотой на длину корней и побегов, а также биомассу клевера лугового в зависимости от условий выращивания и типов обработки. В опытах на беспочвенной среде действие конъюгатов 24-эпибрасинолида на начальный рост растений в концентрациях 10^{-11} – 10^{-9} М оказалось незначительным (за исключением динатрий 2,3-дисульфата 24-эпибрасинолида), в большей степени активность изученных соединений проявилась в лабораторном опыте в почвенной культуре. Отмечается увеличение активности изученных соединений при воздействии факторов окружающей среды. В полевых условиях отмечено достоверное влияние на длину надземных органов растения. Сравнение типов обработки в течение двух вегетационных сезонов выявило преимущество внекорневого внесения брассиностероидов и их производных. Показано, что наиболее эффективным и универсальным конъюгатом для клевера лугового по исследуемым параметрам для двух типов обработки (замачивание семян и опрыскивание растений) является динатрий 2,3-дисульфат 24-эпибрасинолида.

Ключевые слова: брассиностероиды, 24-эпибрасинолид, эфиры ЭБ с серной кислотой, конъюгаты брассиностероидов, клевер, рострегулирующая активность, биомасса.

The Effect of Epibrassinolide and its Sulfuric Acid Esters on the Morphometric Parameters and Biomass of Trifolium Pratense L.

The effect of 24-epibrassinolide and its sodium salts of esters with sulfuric acid on the length of roots and shoots, as well as the biomass of clover, depending on growing conditions and types of processing, was studied for the first time. There is a change in the activity of the studied compounds with an increase in the effect of environmental factors. In experiments on a groundless medium, the effect of epibrassinolide conjugates on the initial growth of plants at concentrations of 10^{-11} – 10^{-9} M turned out to be insignificant (with the exception of disodium 2,3-disulfate 24-epibrassinolide) to a greater extent the activity of the studied compounds was manifested in laboratory experiments in soil culture. In the field conditions, a significant effect on the length of aboveground organs was noted. Comparison of treatment types during two growing seasons revealed the advantage of foliar application of brassinosteroids and their derivatives. It is shown that the most effective and universal conjugate for meadow glue according to the studied parameters for two types of treatment (pre-sowing seeds treatment and spraying plants) is disodium 2,3-disulfate 24-epibrassinolide.

Key words: brassinosteroids, 24-epibrassinolide, esters of EB with sulfuric acid, brassinosteroid conjugates, clover, growth regulating activity, biomass.

Введение

Клевер луговой имеет большое сельскохозяйственное значение и является главной бобовой кормовой культурой в полевых севооборотах Республики Беларусь. В зависимости от фазы развития при сборе урожая его используют для приготовления сена и сенажа, как сидерат в плане снабжения почвы азотом, а также в качестве медоносной культуры. К недостаткам при возделывании данной культуры можно отнести слабую устойчивость к заболеваниям (корневая гниль, увядание, фузариоз, ржавчина и т. д.) и слабую адаптивность к меняющимся условиям произрастания, а также низкую способность конкурировать с сорными растениями. В связи с этим актуальным является использование экологически безопасных средств повышения продуктивности и стрессоустойчивости клевера лугового.

Ранее проведенные исследования описывают положительное влияние brassinosteroidов (БС) на повышение роста, урожайности и биологической ценности растений, на функциональное состояние фотосинтетического аппарата и количество пигментов, а также вовлечение их в регуляцию формирования защитных систем растений [1–4]. В настоящее время большой интерес представляет изучение биологической активности конъюгатов brassinosteroidов. Получены положительные результаты стресс-протекторного и защитного действия некоторых конъюгатов БС на растения, подвергнутые биотическому стрессу [5].

Полученные данные о воздействии конъюгатов фитогормонов с различными биологически значимыми органическими кислотами стали причиной интереса к сульфопроизводным БС. Описано по меньшей мере 8 путей метаболических преобразований БС [6]. Одним из них является сульфатирование сульфотрансферазами, которое предполагает инактивацию БС [7], или, наоборот, необходимый этап для проявления биологического эффекта [8]. Недавно в Институте биоорганической химии НАН Беларуси был синтезирован ряд водорастворимых сульфатов 24-эпибрасинолида [9].

Целью данного исследования является поэтапное исследование биологической активности 24-эпибрасинолида и его конъюгатов с серной кислотой на ростовые параметры и биомассу клевера лугового *Trifolium pratense* L. в зависимости от условий выращивания и типов обработки.

Материалы и методы

24-Эпибрасинолид, натриевые соли 2-, 3-, 22- и 23-моносulfатов ЭБ (2-нс, 3-нс, 22-нс, 23-нс) и 2,3-дисulfата ЭБ (2,3-дндс) (конъюгаты) синтезированы в Лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси и предоставлены для данного исследования. В работе использованы семена клевера лугового *Trifolium pratense* L. (ОАО «МинскСортСемОвощ»).

Определение эффективных концентраций ЭБ и его конъюгатов в лабораторных условиях на беспочвенной среде.

Обработка исследуемыми веществами проводилась однократно в виде предварительного замачивания семян на 5 часов. Изучен диапазон наиболее характерных для действия БС концентраций 10^{-9} – 10^{-11} М. Изучение морфометрических параметров клевера проводили согласно ГОСТу 12038-84 [10]. Проращивание проводилось на фильтровальной бумаге в термостате при 25 °С, в темноте, по истечении трех суток фиксировали энергию прорастания семян, через семь суток определяли всхожесть, среднюю длину корней и побегов проростков клевера [11]. В результате проведенных опытов были отобраны эффективные концентрации ЭБ и каждого из его конъюгатов для дальнейших исследований.

Определение воздействия ЭБ и его конъюгатов на клевер луговой в вегетационном лабораторном эксперименте при различных способах обработки.

В лабораторных условиях на почвенной среде [12; 13] были протестированы два способа обработки растений гормонами в отобранных концентрациях: предпосевная (замачивание семян) и внекорневая обработка (опрыскивание растений). При предпосевной обработке семена замачивали в растворах ЭБ и его конъюгатов в течение 5 ч, далее высаживали в пластиковые контейнеры $9 \times 9 \times 8$ см на универсальном почвогрунте («Хозяин, Карио», Республика Беларусь) и выращивали при 22–25 °С в лабораторных условиях вегетационного эксперимента в течение месяца. При внекорневой обработке семена высаживались в контейнеры без обработки, внесение исследуемых соединений проводили путем опрыскивания растений. Внекорневая обработка проводилась дважды – на стадии всходов растений (6-й день) и на стадии первого настоящего тройчатого листа (15-й день). Временные рамки были установлены нами опытным путем при выращивании клевера в условиях лабораторного вегетационного опыта. В качестве формы контроля растения выращивали с обработкой дистиллированной водой. Фиксировались значения длины подземной (корней) и надземной (побегов) частей клевера лугового, а также их массы (сырая и воздушно-сухая).

Определение воздействия ЭБ и его конъюгатов на клевер луговой в полевом эксперименте при различных способах обработки.

Исследование в полевых условиях проводилось в течение двух лет на экспериментальном участке отдела «Агробиология» Центра экологии (г. Брест). Состав почвы: азот общий – 0,058 %, калий – 82 мг/кг, фосфор – 355,81 мг/кг, свинец – 13,4 мкг/кг, медь – 10,1 мкг/кг, цинк – 86,2 мкг/кг, никель – 3,9 мкг/кг, марганец – 113,3 мкг/кг. На первом этапе исследований (2020 г.) обработку исследуемыми веществами проводили аналогично вегетационному лабораторному опыту (замачивание семян при предпосевной обработке или двукратное опрыскивание при внекорневой обработке). Внесение веществ при внекорневой обработке проводилось на стадии первого тройчатого листа (для увеличения способности конкурировать с сорными растениями на начальных этапах роста) и в стадии ветвления – бутонизации (для сохранения листьев и соцветий, которые обладают наибольшей питательной ценностью). В данных условиях фиксировали значения длины растений клевера лугового. На втором этапе исследований (2021 г.) обработку исследуемыми веществами проводили с использованием внекорневого способа обработки растений. В данных условиях фиксировали значения длины растений и массы сухих стеблей с листьями клевера лугового. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью Microsoft Excel. Установление достоверности различий от контроля проводили нахождением t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждения

В результате лабораторного опыта по подбору оптимальных концентраций тестируемых веществ (таблица 1) выявлено, что относительно контроля на параметр средней длины корней клевера достоверный положительный эффект оказывают ЭБ в концентрации 10^{-9} М (увеличение на 6,1 %) и 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М (увеличение на 6,8 %). На параметр средней длины побегов клевера достоверный положительный эффект относительно контроля оказали 2,3-дндс в концентрации 10^{-10} М (увеличение на 5,3 %) и 2-нс в концентрации 10^{-10} М (увеличение на 3,7 %). Анализ эффективности относительно ЭБ в одинаковых концентрациях, показал, что чуть более активным оказался только динат-рий 2,3-дисульфат ЭБ в концентрации 10^{-10} М и 10^{-11} М. На начальном этапе роста клевера воздействие исследованной группы веществ незначительно. Для ЭБ в концентрации 10^{-11} М отмечается понижение ростовых параметров, в связи с чем в дальнейшем исследовали концентрации 10^{-10} М и 10^{-9} М. В связи с проявленной

активностью двух концентраций динатрий 2,3-дисульфата ЭБ относительно контроля решено продолжить исследование воздействия этого конъюгата и эпибрасинолида в одинаковых концентрациях на почвенной среде.

Таблица 1. – Влияние ЭБ и его конъюгатов на среднюю длину корней и побегов клевера в лабораторных условиях на беспочвенной среде

№	Вариант обработки	Средняя длина корней		Средняя длина побегов	
		см	% относительно контроля	см	% относительно контроля
1	<i>K</i>	2,54 ± 0,07		3,56 ± 0,06	
2	ЭБ 10 ⁻¹¹ М	2,38 ± 0,06*	-6,5	3,47 ± 0,05	-2,6
3	ЭБ 10 ⁻¹⁰ М	2,61 ± 0,06	2,8	3,59 ± 0,05	0,8
4	ЭБ 10 ⁻⁹ М	2,70 ± 0,06*	6,1	3,61 ± 0,05	1,4
5	2-нс 10 ⁻¹¹ М	2,46 ± 0,06	-3,4	3,68 ± 0,06	3,2
6	2-нс 10 ⁻¹⁰ М	2,38 ± 0,05*	-6,4	3,70 ± 0,05*	3,7
7	2-нс 10 ⁻⁹ М	2,68 ± 0,07	5,3	3,46 ± 0,07	-2,8
8	2,3-дндс 10 ⁻¹¹ М	2,60 ± 0,04	2,1	3,63 ± 0,05	1,8
9	2,3-дндс 10 ⁻¹⁰ М	2,49 ± 0,06	-2,2	3,75 ± 0,07**	5,3
10	2,3-дндс 10 ⁻⁹ М	2,72 ± 0,07*	6,8	3,41 ± 0,06*	-4,4
11	3-нс 10 ⁻¹¹ М	2,23 ± 0,08***	-12,1	3,37 ± 0,06**	-5,4
12	3-нс 10 ⁻¹⁰ М	2,67 ± 0,07	5,2	3,42 ± 0,06	-3,9
13	3-нс 10 ⁻⁹ М	2,45 ± 0,06	-3,6	3,12 ± 0,06****	-12,3
14	22-нс 10 ⁻¹¹ М	2,40 ± 0,06	-5,4	3,64 ± 0,05	2,1
15	22-нс 10 ⁻¹⁰ М	2,28 ± 0,05***	-10,4	3,57 ± 0,06	0,1
16	22-нс 10 ⁻⁹ М	2,48 ± 0,06	-2,7	3,41 ± 0,06*	-4,2
17	23-нс 10 ⁻¹¹ М	2,46 ± 0,06	-3,3	3,53 ± 0,06	-1,0
18	23-нс 10 ⁻¹⁰ М	2,37 ± 0,05*	-6,6	3,56 ± 0,06	-1,0
19	23-нс 10 ⁻⁹ М	2,22 ± 0,05***	-12,8	3,49 ± 0,05	-2,0

Примечание – ЭБ – 24-эпибрасинолид; 2-, 3-, 22-, 23-нс – натрий 2-, 3-, 22-, 23-моносulfат 24-эпибрасинолида; 2,3-дндс – динатрий 2,3-дисульфат 24-эпибрасинолида; * – достоверно при $P \leq 0,1$; ** – достоверно при $P \leq 0,05$; *** – достоверно при $P \leq 0,01$; **** – достоверно при $P \leq 0,001$.

Вегетационный лабораторный эксперимент.

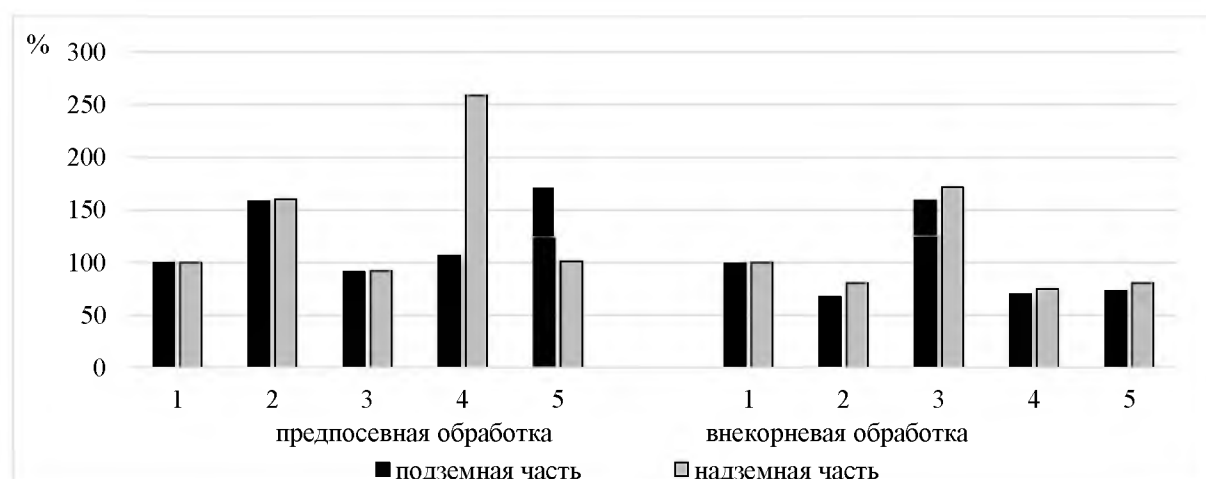
Для дальнейших исследований использовались ЭБ и 2,3-дндс (эффективные концентрации – 10⁻¹⁰ М и 10⁻⁹ М) для следующего этапа исследования – изучения их влияния на морфометрические параметры и биомассу клевера в лабораторном вегетационном эксперименте в почвенной культуре. При предпосевной обработке зафиксировано понижение средней длины корней и побегов растений относительно контроля для обоих отобранных веществ и концентраций (таблица 2). Относительно эпибрасинолида при данном способе обработки достоверного отличия 2,3-дндс от ЭБ не выявлено. При внекорневой обработке растений длина корней клевера незначительно снижалась относительно контроля для всех исследуемых веществ и концентраций за исключением ЭБ в концентрации 10⁻¹⁰ М (повышение на 5,5 %). Для длины побегов клевера зафиксировано достоверное увеличение для всех веществ, однако максимальное значение отмечено для ЭБ в концентрации 10⁻¹⁰ М и 10⁻⁹ М на 8,5 % и 8,2 % относительно контроля. 2,3-дндс показал достоверное повышение длины побегов, однако относительно ЭБ ни для одной из исследуемых концентраций не выявлено достоверных различий.

Таблица 2. – Влияние ЭБ и его конъюгата на среднюю длину корней и побегов клевера в лабораторных условиях на почвенной среде

Вариант обработки	Средняя длина корней		Средняя длина побегов	
	см	% относительно контроля	см	% относительно контроля
Предпосевная обработка				
<i>K</i>	4,03 ± 0,14		7,61 ± 0,13	
ЭБ 10 ⁻¹⁰ М	3,78 ± 0,15	-6,2	7,38 ± 0,15	-3,0
ЭБ 10 ⁻⁹ М	3,92 ± 0,15	-2,6	6,99 ± 0,18***	-8,1
2,3-дндс 10 ⁻¹⁰ М	3,36 ± 0,23**	-16,6	6,83 ± 0,21***	-10,2
2,3-дндс 10 ⁻⁹ М	3,89 ± 0,13	-3,5	7,57 ± 0,14*	-0,6
Внекорневая обработка				
<i>K</i>	4,14 ± 0,11		7,19 ± 0,13	
ЭБ 10 ⁻¹⁰ М	4,37 ± 0,15	5,5	7,80 ± 0,13***	8,5
ЭБ 10 ⁻⁹ М	3,97 ± 0,14	-4,0	7,78 ± 0,21**	8,2
2,3-дндс 10 ⁻¹⁰ М	3,99 ± 0,12	-3,7	7,66 ± 0,13**	6,5
2,3-дндс 10 ⁻⁹ М	3,89 ± 0,13	-5,9	7,61 ± 0,18*	5,8

Примечание – *K* – контроль; ЭБ – 24-этибрассинолид; 2-, 3-дндс – динатрий 2,3-дисульфат 24-этибрассинолида; * – достоверно при $P \leq 0,1$; ** – достоверно при $P \leq 0,05$; *** – достоверно при $P \leq 0,01$; **** – достоверно при $P \leq 0,001$.

При изучении изменения биомассы (сырой и воздушно-сухой) клевера при воздействии исследуемой группы веществ в ряде вариантов обнаружено значительное увеличение содержания сухой массы относительно контроля (рисунок 1). При предпосевной обработке максимальное значение относительно контроля достигается при воздействии ЭБ в концентрации 10⁻¹⁰ М (увеличение массы корней на 58,5 % и побегов на 60,0 %), 2,3-дндс в концентрации 10⁻¹⁰ М (увеличение массы корней на 7,3 % и побегов на 158,7 %) и 2,3-дндс в концентрации 10⁻⁹ М (увеличение массы корней на 70,7 % и побегов на 1,3 %). При внекорневой обработке увеличение содержания сухой массы клевера (корней и побегов) относительно контроля наблюдается при воздействии только ЭБ в концентрации 10⁻⁹ М (увеличение корней на 59,1 % и побегов на 71,7 %).



Примечание – 1 – контроль; 2 – 24-этибрассинолид в концентрации 10⁻¹⁰ М; 3 – 24-этибрассинолид в концентрации 10⁻⁹ М; 4 – динатрий 2,3-дисульфат 24-этибрассинолида в концентрации 10⁻¹⁰ М; 5 – динатрий 2,3-дисульфат 24-этибрассинолида в концентрации 10⁻⁹ М.

Рисунок. – Влияние ЭБ и его эфиров с серной кислотой на воздушно-сухую биомассу клевера, выращенного в результате вегетационного опыта в лабораторных условиях

По результатам лабораторных исследований можно сделать вывод о повышении активности данной группы веществ при увеличении факторов воздействия окружающей среды, а именно почвенных показателей. Отмечается ингибирование начального роста клевера лугового, в частности длины корней растений, при предпосевной обработке и увеличении длины побегов клевера при внекорневой обработке ЭБ и его сульфопроизводным 2,3-дндс. Сравнивая действие способов обработки на ростовые параметры, можно говорить о преимуществе внекорневого типа обработки для клевера лугового в лабораторных условиях. Наибольшей активностью для ЭБ и 2,3-дндс отличается концентрация 10^{-10} М.

Полевой эксперимент. В полевом эксперименте первого года исследования были заложены опыты с изучением двух способов обработки исследуемыми соединениями. Фиксировали длину побегов клевера лугового в двух укосах в зависимости от способа внесения веществ (таблица 3).

Таблица 3. – Влияние ЭБ и его конъюгата на среднюю длину побегов клевера в полевых условиях (2020 г.)

Вариант обработки	Средняя длина побегов			
	см	% относительно контроля	см	% относительно контроля
	первый укос		второй укос	
Предпосевная обработка				
<i>K</i>	17,30 ± 0,40		3,40 ± 0,21	
ЭБ 10 ⁻¹⁰ М	15,57 ± 0,81*	-10,0	3,87 ± 0,22	13,75
ЭБ 10 ⁻⁹ М	18,68 ± 0,50**	8,0	4,14 ± 0,23**	21,54
2,3-дндс 10 ⁻¹⁰ М	22,22 ± 0,37****	28,5	4,14 ± 0,20**	21,58
2,3-дндс 10 ⁻⁹ М	24,52 ± 0,33****	41,8	4,21 ± 0,23**	23,66
Внекорневая обработка				
<i>K</i>	17,72 ± 0,35		3,83 ± 0,25	
ЭБ 10 ⁻¹⁰ М	19,97 ± 0,26****	12,7	4,56 ± 0,25**	19,10
ЭБ 10 ⁻⁹ М	19,81 ± 0,29****	11,8	4,81 ± 0,25***	25,61
2,3-дндс 10 ⁻¹⁰ М	20,10 ± 0,34****	13,4	5,16 ± 0,23****	34,76
2,3-дндс 10 ⁻⁹ М	20,54 ± 0,29****	15,9	5,20 ± 0,22****	35,59

Примечание – *K* – контроль; ЭБ – 24-этибрасинолид; 2-, 3-дндс – динатрий 2,3-дисульфат 24-этибрасинолида; * – достоверно при $P \leq 0,1$; ** – достоверно при $P \leq 0,05$; *** – достоверно при $P \leq 0,01$; **** – достоверно при $P \leq 0,001$.

В первом укосе клевера наблюдается значительный эффект от воздействия на ростовые показатели растений, обработанных ЭБ и его конъюгатами. Так, при предпосевной обработке семян активность относительно контроля проявили ЭБ в концентрации 10^{-9} М (увеличение на 8,0 %), 2,3-дндс в концентрациях 10^{-10} М (28,5 %) и 10^{-9} М (41,8 %). При внекорневой обработке зафиксировано повышение роста растений (в диапазоне от 11,8 до 15,9 %) для всех изученных соединений. Максимальное увеличение длины зафиксировано для 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М (увеличение на 15,9 %). Сравнение результатов действия ЭБ и его конъюгата в одинаковых концентрациях показало эффективность предпосевной обработки. Так, в концентрации 10^{-10} М 2,3-дндс оказался эффективнее ЭБ на 42,7 %, а в концентрации 10^{-9} М – на 31,3 %. При внекорневой обработке отмечено незначительное увеличение (3,7 %) относительно ЭБ для 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М.

Во втором укосе клевера наблюдается значительное повышение эффективности всех исследуемых веществ для двух способов обработки, однако эффект от предпосевной обработки значительно снижается. Так, при предпосевной обработке длина надземной части клевера увеличивалась по сравнению с контролем в диапазоне от 13,7 % при использовании ЭБ в концентрации 10^{-10} М до 23,7 % при использовании 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М. При внекорневой обработке диапазон увеличения длины надземной части клевера составил от 19,1 % при использовании ЭБ в концентрации 10^{-10} М до 35,6 % при использовании 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М. При предпосевной обработке в концентрации 10^{-10} М применение 2,3-дндс эффективнее ЭБ на 6,9 %, а в концентрации 10^{-9} М – на 1,7 %. При внекорневой обработке в концентрации 10^{-10} М применение 2,3-дндс эффективнее ЭБ на 13,1 %, а в концентрации 10^{-9} М – на 8,0 %. Изменение длины клевера лугового относительно контроля в зависимости от укоса говорит о положительном влиянии данной группы веществ на длину клевера во втором укосе, за исключением 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М. Наибольшей эффективностью и универсальностью отличается внекорневая обработка.

По результатам полевого эксперимента 2020 г. на второй год выращивания клевера лугового для изучения влияния ЭБ и его конъюгатов на морфометрические параметры использовалась только внекорневая обработка (таблица 4).

Таблица 4. – Влияние ЭБ и его конъюгата на среднюю длину побегов клевера в полевых условиях (2021 г.)

Вариант обработки	Средняя длина надземной части			
	см	% относительно контроля	см	% относительно контроля
	первый укос		второй укос	
Внекорневая обработка				
<i>K</i>	19,28 ± 0,64		17,64 ± 0,58	
ЭБ 10 ⁻¹⁰ М	22,24 ± 1,01**	15,3	20,45 ± 0,50****	15,9
ЭБ 10 ⁻⁹ М	22,32 ± 0,73***	15,8	22,21 ± 0,60****	25,9
2,3-дндс 10 ⁻¹⁰ М	20,96 ± 0,86	8,7	19,83 ± 0,49***	12,4
2,3-дндс 10 ⁻⁹ М	22,48 ± 0,95***	16,6	21,55 ± 0,56****	22,2

Примечание – *K* – контроль; ЭБ – 24-эпибрассинолид; 2-, 3-дндс – динатрий 2,3-дисульфат 24-эпибрассинолида; * – достоверно при $P \leq 0,1$; ** – достоверно при $P \leq 0,05$; *** – достоверно при $P \leq 0,01$; **** – достоверно при $P \leq 0,001$.

Результаты выращивания клевера во втором году по сравнению с предыдущим годом показали, что в первом укосе большую эффективность проявили как ЭБ, так и его конъюгат 2,3-дндс в двух исследуемых концентрациях. Так, в концентрации 10^{-9} М для ЭБ увеличение длины относительно контроля составило 15,8 %, а для 2,3-дндс в той же концентрации зафиксировано увеличение на 16,6 %.

В концентрации 10^{-10} М ЭБ превзошел активность конъюгата (15,3 % для ЭБ и 8,7 % для 2,3-дндс) относительно контроля. Незначительную активность относительно ЭБ проявил 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М.

Во втором укосе клевера наблюдается значительное повышение воздействия как ЭБ, так и 2,3-дндс относительно контроля. Наилучший результат был получен для ЭБ в концентрации 10^{-9} М (увеличение на 25,9 %) и для 2,3-дндс в концентрации 10^{-9} М (увеличение на 22,2 %).

При анализе результатов по выходу биомассы клевера при воздействии исследуемых веществ не обнаружено достоверного увеличения сухой массы относительно контроля (таблица 5). Увеличение длины клевера без увеличения биомассы растений может

быть связано с воздействием ЭБ и его конъюгатов на стимуляцию растяжения и деления клеток в меристемах подобно ауксинам и гиббереллинам [14].

Таблица 5. – Влияние ЭБ и его конъюгата на сухую биомассу клевера, выращенного в результате полевого опыта 2021 г.

Вариант обработки	Надземная часть, г		Содержание воды, %	Содержание сухой массы, %
	Масса растений			
	сырая	сухая		
<i>K</i>	9,07	2,11	76,68	23,32
<i>ЭБ</i> 10 ⁻¹⁰ М	7,28	1,70	76,63	23,37
<i>ЭБ</i> 10 ⁻⁹ М	7,40	1,72	76,72	23,28
<i>2,3-дндс</i> 10 ⁻¹⁰ М	6,55	1,50	77,11	22,89
<i>2,3-дндс</i> 10 ⁻⁹ М	7,13	1,67	76,56	23,44

Примечание – *K* – контроль; ЭБ – 24-эпибрассинолид; 2-, 3-дндс – динатрий 2,3-дисульфат 24-эпибрассинолида; * – достоверно при $P \leq 0,1$; ** – достоверно при $P \leq 0,05$; *** – достоверно при $P \leq 0,01$; **** – достоверно при $P \leq 0,001$.

Таким образом, по параметру длины надземной части клевера лугового первого года выращивания в полевых условиях (2020 г.) наибольшую активность проявил динатрий 2,3-дисульфат 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-9} М независимо от способа внесения. На втором этапе исследования (2021 г.) динатрий 2,3-дисульфат 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-9} М проявил активность наравне с эпибрассинолидом. По результатам исследований двух вегетационных сезонов отмечается превосходство внекорневого способа обработки клевера лугового. Относительно контроля показатели длины побегов второго укоса в основном выше по сравнению с первым укосом. Это может быть обусловлено стресс протекторным действием тестируемых БС (лучшее отращивание побегов после укоса).

Наблюдаемая нами полифункциональность конъюгатов эпибрассинолида с серной кислотой может быть обусловлена вызовом специфического физиологического ответа в зависимости от условий, влияющих на растение при его росте и развитии, а также в зависимости от способа их внесения. Более детальные закономерности влияния эпибрассинолида и его сульфопроизводных будут проанализированы при последующем сравнении их с биохимическими параметрами клевера лугового.

Заключение

Поэтапное исследование биологической активности 24-эпибрассинолида и его натриевых солей эфиров с серной кислотой по влиянию на параметры длины и биомассы клевера лугового в зависимости от условий выращивания и способов обработки показало, что в лабораторных условиях действие 24-эпибрассинолида и его конъюгатов неэффективно. Заметное влияние наблюдается только в вегетационном лабораторном опыте. Причем на почвенной среде при предпосевной обработке зафиксировано снижение длины корней и побегов клевера, а внекорневая обработка оказывала положительное воздействие на длину побегов. По двум ростовым параметрам клевера наибольшую активность проявил 24-эпибрассинолид в концентрации 10^{-10} М.

Анализ выхода биомассы клевера показал, что максимальное увеличение массы надземной части зафиксировано при обработке 24-эпибрассинолида и динатрий 2,3-дисульфата 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-10} М при предпосевной обработке, а при внекорневой обработке лишь для 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-9} М.

Значительная биологическая активность исследуемых веществ наблюдалась в полевых опытах, где присутствует многофакторность условий (температура, влажность и др.).

В первый год произрастания (вегетационный сезон 2020 г.) как в первом, так и во втором укосе клевера, независимо от типа обработки, максимальное увеличение длины побегов зафиксировано при воздействии 2,3-дисульфата динатрия 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-9} М.

На второй год произрастания клевера (сезон 2021 г.) при внекорневой обработке растений как в первом укосе клевера, так и во втором максимальное достоверное увеличение длины побегов зафиксировано для эпибрассинолида и 2,3-дисульфата динатрия 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-9} М.

В зависимости от укоса изменение длины клевера лугового относительно контроля говорит о проявлении большей активности данной группы веществ в основном во втором укосе клевера. Сравнивая типы обработки, для клевера лугового выявлено, что наибольшей эффективностью и универсальностью отличается внекорневая обработка.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khripach, V. Brassinosteroids: a new role of steroids as bio-signaling molecules / V. Khripach, V. Zhabinskii, R. Karnachuk // Chemical probes in biology : Science at the Interface of Chemistry, Biology and Medicine ; ed. M. P. Schneider. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2003. – P. 153–167.
2. Hayat, S. Brassinosteroids: A Class of Plant Hormones / S. Hayat, A. Ahmad. – Dordrecht : Springer, 2011. – 462 p.
3. Ефимова М. В. Регуляция эпибрассинолидом морфогенеза и содержания фотосинтетических пигментов в проростках *Arabidopsis thaliana* / М. В. Ефимова, М. А. Елисеева // Тр. Том. гос. ун-та. Сер. биол. – 2010. – № 275. – С. 267–271.
4. Влияние лактон- и кетонсодержащих брассиностероидов на фотосинтетическую активность листьев ячменя при старении / И. С. Ковтун [и др.] // Физиология растений. – 2021. – Т. 68, № 3. – С. 268–278.
5. Защитное действие салицилатов брассиностероидов на растения ярового ячменя, подвергнутые биотическому стрессу / Н. Е. Манжелесова [и др.] // Докл. НАН Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 3. – С. 304–311.
6. Bajguz, A. Metabolism of brassinosteroids in plants / A. Bajguz // Plant Physiol. Biochem. – 2007. – Vol. 45, nr 2. – P. 95–107.
7. Inactivation of brassinosteroid biological activity by a salicylate-inducible steroid sulfotransferase from *Brassica napus* / M. Rouleau [et al.] // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274, nr 30. – P. 20925–20930.
8. Dawson, P. A. The biological roles of steroid sulfonation / P. A. Dawsow // From Physiology to Clinical Medicine. – 2012. – Vol. 36, nr 5. – P. 45–64.
9. Synthesis of sulfated brassinosteroids / H. Zhylitskaya [et al.] // Steroids. – 2017. – Vol. 117. – P. 2–10.
10. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038-84. – Введ. 01.07.86. – М. : Стандартинформ, 2011. – 29 с.
11. Методика определения силы роста семян кормовых культур / В. И. Карпин [и др.]. – М. : Изд-во РГАУ – МСХА, 2012. – 16 с.
12. Журбицкий, З. И. Теория и практика вегетационного метода / З. И. Журбицкий. – М. : Наука, 1968. – 260 с.
13. Дуктова, Н. А. Учебная практика по физиологии и биохимии растений : программа и метод. указания / Н. А. Дуктова, А. И. Мыхлык, В. П. Моисеев. – Горки : БГСХА, 2018. – 56 с.
14. Brassinosteroid production and signaling differentially control cell division and expansion in the leaf / M. K. Zhiponova [et al.] // New Phytol. – 2013. – Vol. 197. – P. 490–502.

REFERENCES

1. Khripach, V. Brassinosteroids: a new role of steroids as bio-signaling molecules / V. Khripach, V. Zhabinskii, R. Karnachuk // *Chemical probes in biology : Science at the Interface of Chemistry, Biology and Medicine* ; ed. M. P. Schneider. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2003. – P. 153–167.
2. Hayat, S. Brassinosteroids: A Class of Plant Hormones / S. Hayat, A. Ahmad. – Dordrecht : Springer, 2011. – 462 p.
3. Yefimova, M. V. Rieglaciya epibrassinolidom morfogeneza i sodierzhanija fotosintetichieskikh pigmentov v prorostkakh *Arabidopsis thaliana* (L.) / M. V. Yefimova, M. A. Yelisejeva // *Tr. Tom. gos. un-ta. Sier. biol.* – 2010. – № 275. – S. 267–271.
4. Vlijaniye lakton- i kietonsodierzhashchikh brassinosteroidov na fotosintetichieskuju aktivnost' list'jev jachmienia pri starenii / I. S. Kovtun [i dr.] // *Fiziologija rastenij.* – 2021. – T. 68, № 3. – S. 268–278.
5. Zashchitnoje diejstviye salicilatov brassinosteroidov na rastienija jarovogo jachmienia, podviergnutykh biotichieskomu stressu / N. Ye. Manzheliesova [i dr.] // *Dokl. NAN Bielarusi.* – 2019. – T. 63, № 3. – P. 304–311.
6. Bajguz, A. Metabolism of brassinosteroids in plants / A. Bajguz // *Plant Physiol. Biochem.* – 2007. – Vol. 45, nr 2. – P. 95–107.
7. Inactivation of brassinosteroid biological activity by a salicylate-inducible steroid sulfotransferase from *Brassica napus* / M. Rouleau [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274, nr 30. – P. 20925–20930.
8. Dawson, P. A. The biological roles of steroid sulfonation / P. A. Dawsow // *From Physiology to Clinical Medicine.* – 2012. – Vol. 36, nr 5. – P. 45–64.
9. Synthesis of sulfated brassinosteroids / H. Zhylitskaya [et al.] // *Steroids.* – 2017. – Vol. 117. – P. 2–10.
10. Siemiena siel'skokhoziajstviennykh kul'tur. Mietody opriedielienija vskhozhesti : GOST 12038-84. – Vvied. 01.07.86. – M. : Standartinform, 2011. – 29 s.
11. Mietodika opriedielienija sily rosta siemian kormovykh kul'tur / V. I. Karpin [i dr.]. – M. : Izd-vo RGAU – MSKhA, 2012. – 16 s.
12. Zhurbickij, Z. I. Tieorija i praktika viegietacionnogo mietoda / Z. I. Zhurbickij. – M. : Nauka, 1968. – 260 s.
13. Duktova, N. A. Uchiebnaja praktika po fiziologii i biokhimii rastenij : programma i mietod. ukazaniya / N. A. Duktova, A. I. Mykhlyk, V. P. Moisiejev. – Gorki : BGSKhA, 2018. – 56 s.
14. Brassinosteroid production and signaling differentially control cell division and expansion in the leaf / M. K. Zhiponova [et al.] // *New Phytol.* – 2013. – Vol. 197. – P. 490–502.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 09.03.2022