

УДК 581.821

**Я. В. Арчибасова<sup>1</sup>, А. П. Колбас<sup>2</sup>**<sup>1</sup> *магистр биол. наук, сотрудник каф. ботаники и экологии**Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина*<sup>2</sup> *канд. биол. наук, доц., нач. Центра экологии, доц. каф. ботаники и экологии**Брестского государственного университета имени А. С. Пушкина**e-mail: <sup>2</sup>kolbas77@mail.ru***ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ  
НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *HELIANTHUS ANNUUS*  
В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ**

*Изучено влияние трех brassinosterоидов в различных концентрациях на структурные параметры двух культиваров подсолнечника в полевых условиях. Определены всхожесть, длина стебля, урожайность семян и биомассы. Выявлено положительное влияние некоторых гормонов в определенных концентрациях на структурные параметры растений подсолнечника. Зафиксировано улучшение полевой всхожести семян мутантной линии М1 на 14 % для гомобрассинолида ( $10^{-8}$  %) и эпибрассинолида ( $10^{-6}$  %). У сорта Ethic – на 20 %, на 14 % для гомобрассинолида ( $10^{-7}$  %) и эпибрассинолида ( $10^{-8}$  %). К концу вегетационного периода у Ethic превышение ростовых параметров над контролем составило 15–16 % для гомобрассинолида ( $10^{-8}$  %) и эпикастастерона ( $10^{-6}$  %,  $10^{-8}$  %). Увеличение урожайности семян на 19,6 % у М1 отмечено после обработки эпибрассинолидом ( $10^{-7}$  %), а у Ethic на 47,2 % – после обработки эпикастастероном ( $10^{-8}$  %). Увеличение биомассы побегов наблюдалось у М1 на 35–71 %. Для адаптации растений и повышения урожайности рекомендуется осуществлять предпосевную обработку семян подсолнечника растворами протестированных гормонов.*

**Введение**

В современной прикладной биологии все большее значение приобретают методы повышения продуктивности растений за счет использования гормонов. Хорошие результаты по повышению урожайности растений, особенно в стрессовых условиях, показали некоторые стероидные гормоны, в частности brassinosterоиды (БС) [1]. Они составляют новый шестой класс растительных гормонов в дополнение к ауксинам, гиббереллинам, цитокининам, абсцизовой кислоте и этилену. По химической структуре БС представляют собой производные стероида холестана, что относит их к классу экидистероидов (подкласс фитоэкидистероиды) [2].

БС обладают высокой биологической активностью и способны в низких концентрациях воздействовать на физиологические процессы в растениях, повышая их рост, урожайность и устойчивость к стресс-факторам среды, в том числе к засухе, экстремальным температурам, токсичным веществам и солености [3]. В то же время они являются экологически дружественными соединениями, не накапливаются и легко разлагаются.

Эти свойства находят применение в различных сферах народного хозяйства, в том числе и в выращивании быстрорастущих энергетических культур [1]. Одной из перспективных культур для получения как продовольственной продукции, так и биотоплива, а также использования в фиторемедиации является подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.) [4].

Влияние стероидных соединений на данном объекте исследовано недостаточно, особенно если речь идет о комплексном анализе параметров. Оценка влияния стероидных соединений на показатели всхожести, роста и развития растений в полевом эксперименте необходима для выявления наиболее чувствительных сортов и подбора новых оптимальных доз препаратов для использования их в реальных условиях. Также важ-

ным аспектом является скрининг новых объектов и их параметров для выявления индикаторов присутствия стероидных соединений.

Цель исследования – оценить влияние brassinosterоидов на изменения морфометрических признаков *Helianthus annuus* L. в полевых условиях.

Задачи исследования:

- 1) определить изменение ростовых параметров двух культиваров подсолнечника под действием растворов brassinosterоидов различных концентраций;
- 2) определить изменение урожайности двух культиваров подсолнечника под действием растворов brassinosterоидов различных концентраций в полевых условиях;
- 3) выявить эффективные концентрации БС для практического использования.

### Материалы и методы исследования

В опытах использовали растворы трех brassinosterоидов, синтезированных в институте биоорганической химии НАН Беларуси: эпибрасинолида (ЭБ), гомобрасинолида (ГБ) и эпикастастерона (ЭК). Исходные растворы, с концентрацией  $10^{-2}$  %, в последующем разбавлялись дистиллированной водой до рабочих концентраций (%):  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ .

Для изучения влияния различных концентраций brassinosterоидов на рост и развитие перспективных культиваров подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.) были использованы семена мутантной линии M1: SBI-12-B4-E-12/15-35-140-04-MB (Швейцария) и коммерческого сорта Ethic (Франция), показавших значительную эффективность в предыдущих опытах по фиторемедиации и получению биотоплива загрязненных почв [5].

С учетом изученных литературных данных и предыдущих исследований на других культурах была предложена следующая схема опыта.

Семена (по 100 шт.) предварительно замачивали в течение 5 часов в растворах с БС. В качестве контроля использовалась дистиллированная вода [6]. Далее семена высаживались на опытном поле отдела «Агробиология» Центра экологии БрГУ имени А. С. Пушкина. Схема посадки: расстояние в ряду между растениями составило 25 см, для возможности последующей механизированной обработки почвы мотоблоком расстояние между рядами составило 1 м. Таким образом, плотность посадки составила 40 000 растений/га. Посадка подсолнечника была осуществлена 12.04.2017. Первые всходы появились 10.05.2017.

В период выращивания фиксировались следующие метеоданные: максимальная и минимальная температура воздуха, средняя температура воздуха и количество осадков, а также их месячные суммы. Были осуществлены необходимые агротехнические мероприятия: прополки, подкормка, рыхление почвы и др.

В течение вегетационного периода производились измерения высоты стебля изучаемых растений (каждые 7–10 дней). Сбор корзинок подсолнечника осуществлен 06.09.2017. После этого корзинки с семенами были размещены для высушивания до воздушно-сухой массы в закрытом проветриваемом помещении. Такой же сушке подверглись стебли и листья модельных растений подсолнечника. После этого все органы были взвешены.

Весь статистический анализ был проведен с использованием программы Microsoft Excel. Были рассчитаны средние значения и стандартные отклонения. Параллельно производился Студент-тест для выявления различий между средними величинами тест-параметров. Различия признавались достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Анализ метеоданных показал, что значительную роль в ограничении роста играла весенняя засуха в середине мая (рисунок 1). В этот период достоверное антистрессовое воздействие на ростовые параметры было выявлено для двух концентраций ЭК:  $10^{-6}$  % и  $10^{-7}$  % (рисунок 2).

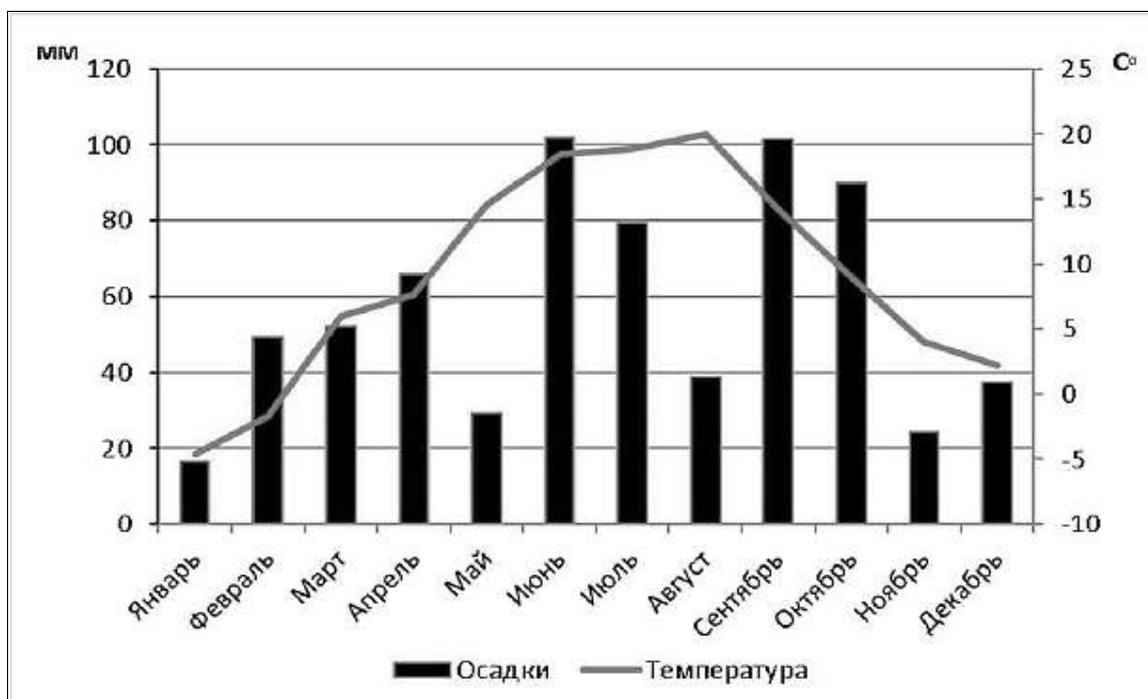


Рисунок 1. – Количество осадков и температурные показатели в 2017 г. (месячная сумма)

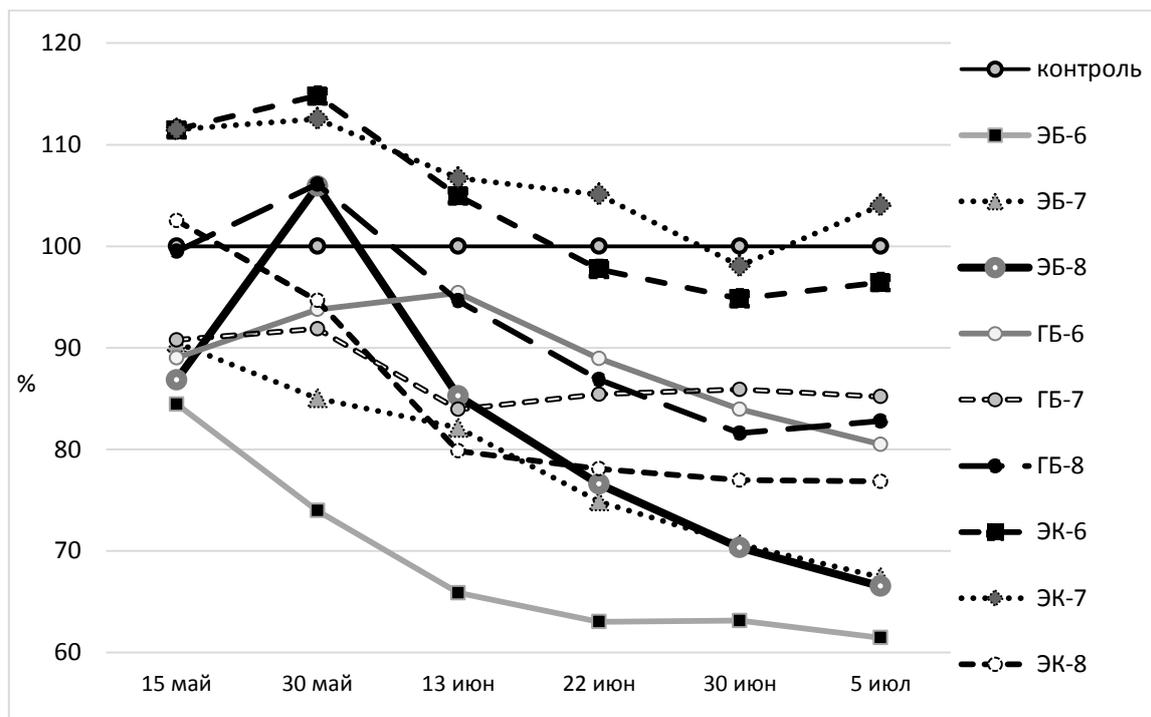


Рисунок 2. – Динамика высоты стебля М1 относительно контроля за период наблюдения

Эти данные подтверждают ранее высказанное мнение о положительном влиянии БС на адаптивные и антистрессовые свойства растений на ранних этапах развития, в частности в условиях недостаточного количества осадков и при низких температурах в первые недели роста [7]. В связи с усиленным ростом на начальных этапах возможно получение ранних дружных всходов и активное конкурирование с сорняками.

Проведенные полевые исследования показали, что всхожесть подсолнечника мутантной линии М1 варьировала от 62 (ГБ  $10^{-7}$  %) до 90 % (ГБ  $10^{-8}$  %, ЭБ  $10^{-6}$  %). Всхожесть коммерческого сорта Ethic от (контроль) до 100 % (ГБ  $10^{-7}$  %).

Первые настоящие листья в фазе В4 [8] отмечены 20 мая. Длина гипокотыля в это время у М1 варьировала от 3,8 (ЭБ  $10^{-6}$  %) до 5 см (ЭК  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  %), что составило 84 и 111 % относительно контроля соответственно. Длина гипокотыля на данный момент у коммерческого сорта Ethic варьировала от 4,38 (ГБ  $10^{-6}$  %) до 5,85 см (ЭБ  $10^{-6}$  %), что составило 89 и 120 % относительно контроля соответственно.

К концу вегетационного периода у коммерческого сорта Ethic достоверное превышение ростовых параметров над контролем значительно снизилось и составило 11 % для ЭБ  $10^{-6}$  %, 15 % для ГБ  $10^{-8}$  %, 15 % для ЭК  $10^{-6}$  % и 16 % для ЭК  $10^{-8}$  %. При этом происходило значительное снижение прироста стебля у М1, достоверные различия от контрольных растений зафиксированы после обработки ЭБ (все концентрации), ГБ  $10^{-6}$  и ЭК  $10^{-8}$  %. Слабый положительный эффект (5 %) относительно контроля отмечен для ЭК  $10^{-7}$  %, но эти отличия статистически недостоверны (рисунок 3).

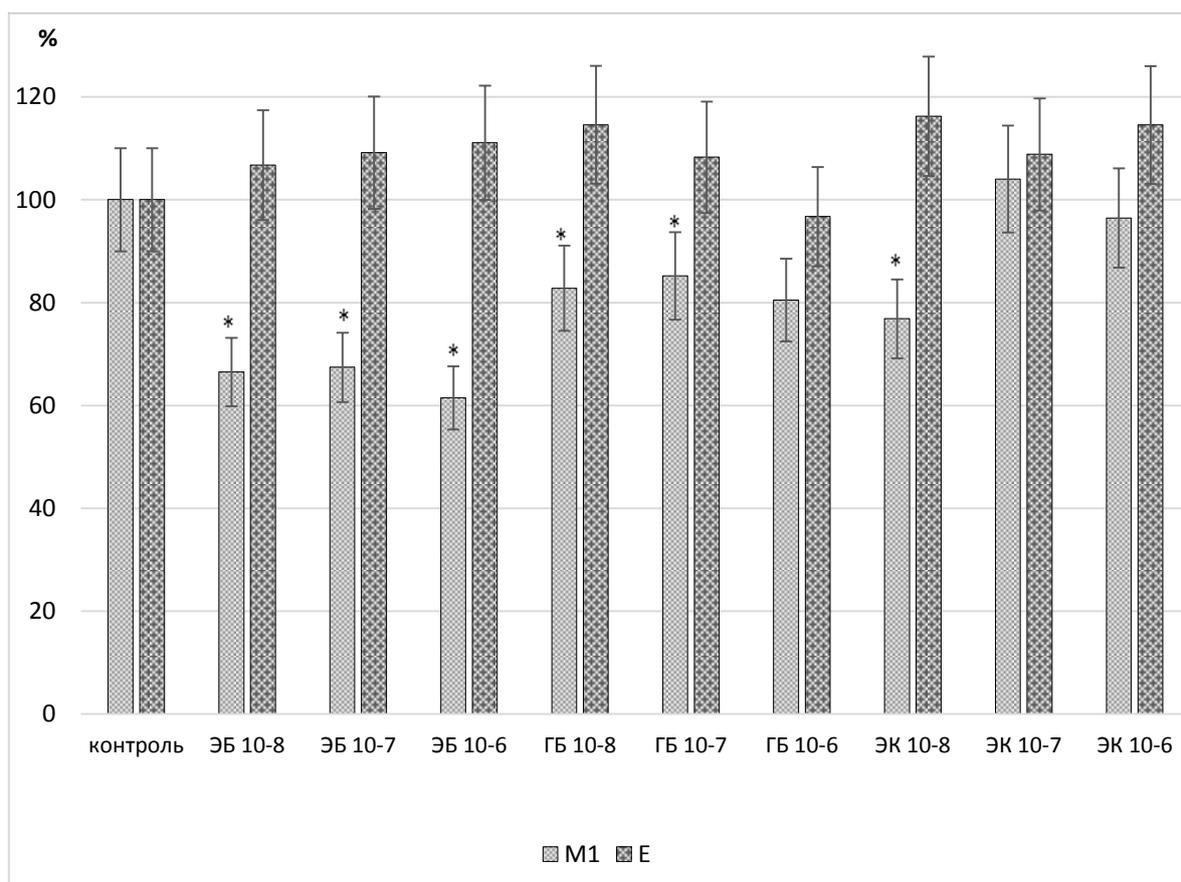
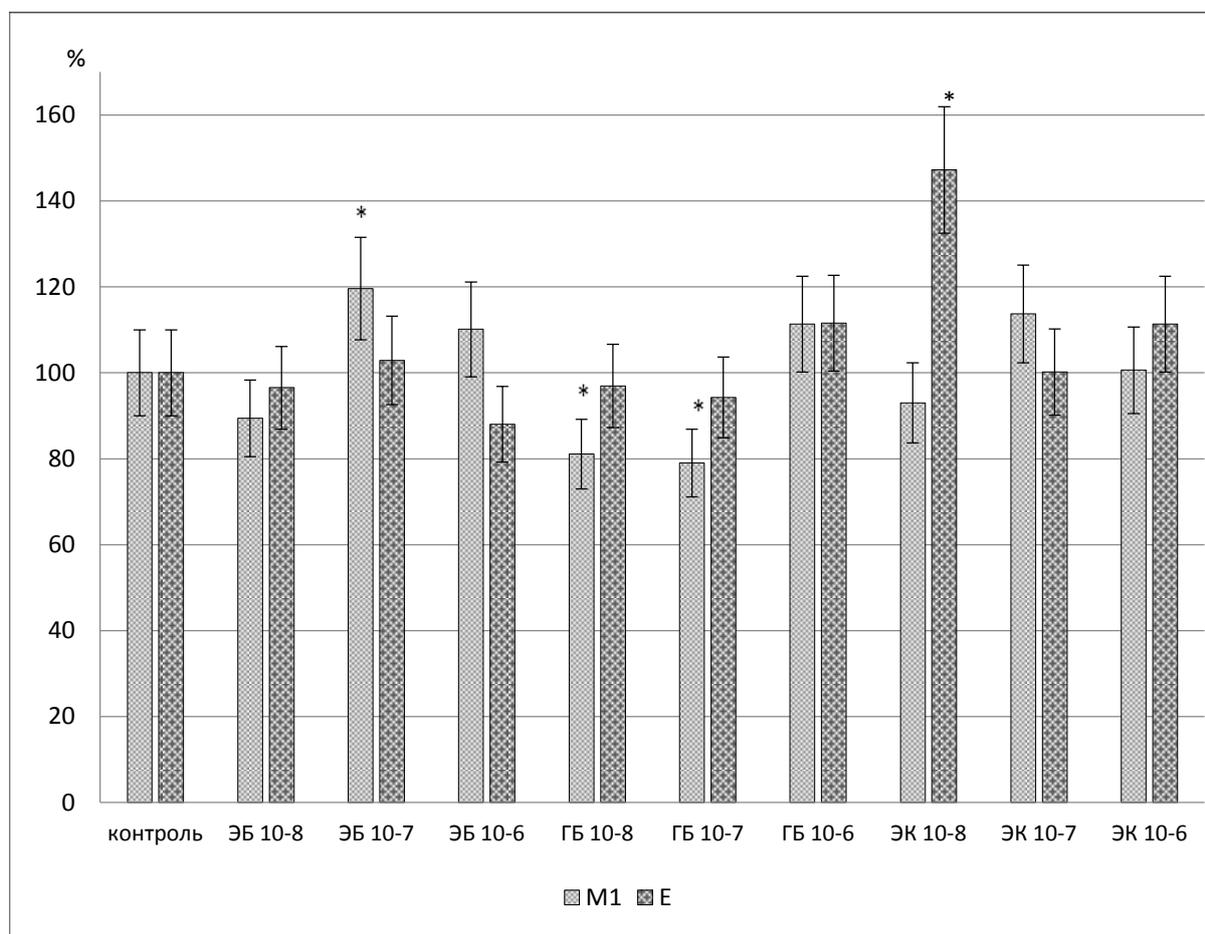


Рисунок 3. – Высота стеблей двух культиваров к моменту окончания роста (22.06.2017) (Стьюдент-тест указывает на достоверные различия между культиварами; \*P < 0,05)

Урожайность семян варьировала в пределах 3,4–5,2 т/га для М1 и 3,5–5,9 т/га для Е. Причем в большинстве случаев урожайность семян мутантной линии была несколько выше, чем коммерческого сорта (рисунок 4).

Значительное увеличение урожайности семян мутантной линии М1 по сравнению с контролем было отмечено после следующих обработок: ЭБ  $10^{-7}$  % – 19,6 %, ЭБ  $10^{-6}$  % – 10,1 %, ЭК  $10^{-7}$  % – 13,8 %. У коммерческого сорта увеличение урожайности семян отмечено после следующих обработок: ГБ  $10^{-6}$  % – на 11,5 %, ЭК  $10^{-6}$  % – на 11,3 %, и статистически достоверное увеличение урожайности семян на 47,2 % по сравнению с контролем было отмечено для ЭК  $10^{-8}$  %. Достоверное падение урожайности семян на 21 и 19 % зафиксировано для М1 при применении ГБ  $10^{-7}$  % и  $10^{-8}$  % соответственно.

Во время проведения полевого опыта в связи с регулярным наблюдением за всеми этапами развития выращиваемой культуры прогнозировалась высокая урожайность в повторности, обработанной ЭК  $10^{-8}$  %, однако из-за повреждения части корзинок птицами в этом варианте данные получились несколько ниже ожидаемых. Ранее некоторые авторы указывали на возможность проявления стероидными гормонами в определенных концентрациях ингибиторных свойств [9].

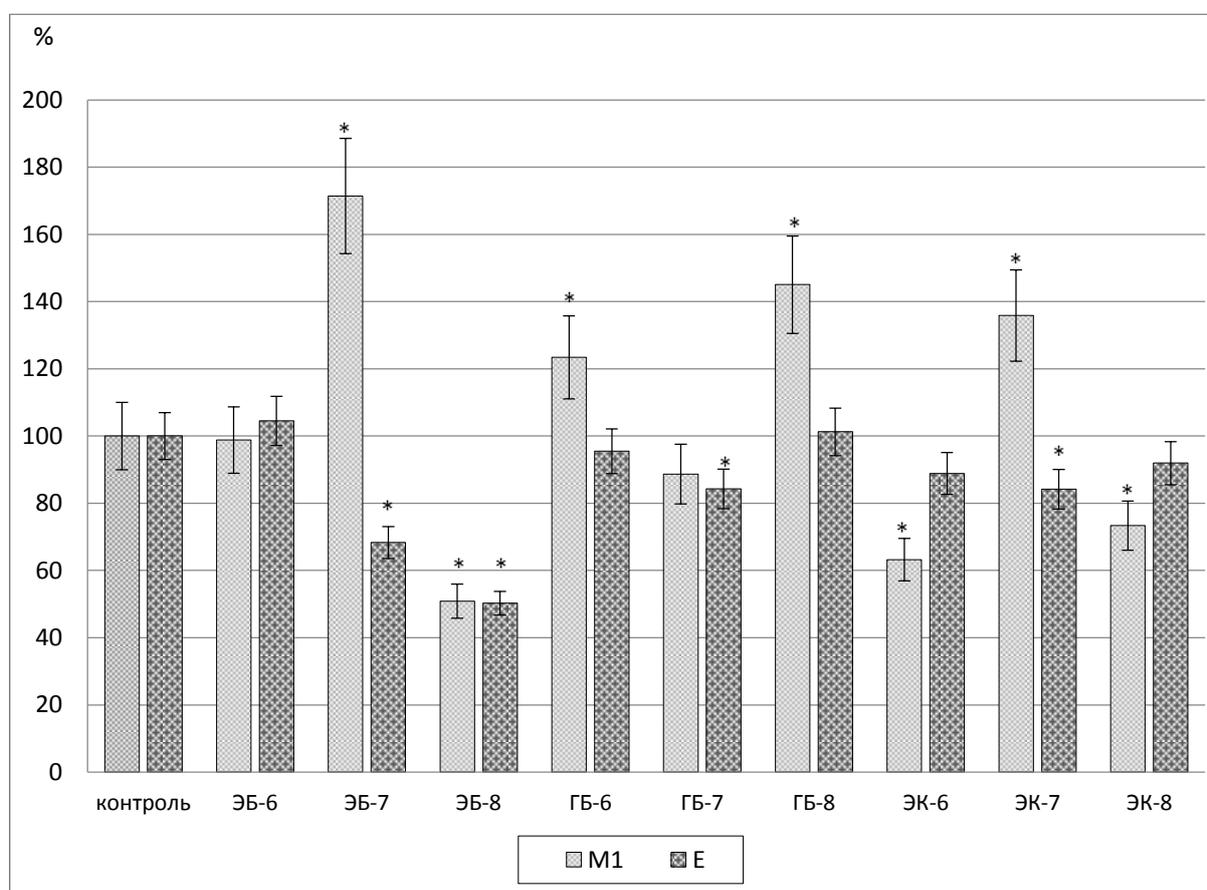


**Рисунок 4. – Урожайность семян двух культиваров подсолнечника (представлены средние значения (n = 10); Стьюдент-тест указывает на достоверные различия от контроля; \*P < 0,05)**

В опытах научно-исследовательских учреждений Республики Беларусь урожайность семян подсолнечника однолетнего ежегодно варьирует в пределах 2,5–6,6 т/га,

но в производственных условиях она обычно ниже – 0,7–1 т/га [10]. Наши результаты согласуются с данными научно-исследовательских учреждений. Этот параметр важен не только для продовольственных целей, но и для определения биоэнергетического потенциала культур.

Наблюдается широкая амплитуда варьирования урожайности зеленой массы в связи с влиянием многих экологических факторов. Для М1 после обработок растворами ЭБ  $10^{-7}$  %, ГБ  $10^{-8}$  % и ЭК  $10^{-7}$  % наблюдается увеличение зеленой биомассы относительно контроля на 71, 45 и 35 % соответственно при одновременном уменьшении длины стебля. Для Е наблюдалось общее достоверное снижение зеленой биомассы при одновременном значительном увеличении длины стебля (рисунок 5) [11]. Такой эффект схож с явлением этиолирования [12]. Этот параметр имеет большое значение при оценке эффективности фиторемедиационных мероприятий, т. к. он оказывает наибольшее влияние на экстракцию потенциально токсичных элементов [12].



**Рисунок 5. – Урожайность зеленой массы подсолнечника (представлены средние значения (n = 10); Стьюдент-тест указывает на достоверные различия от контроля; \*P < 0,05)**

Таким образом, проведенные опыты доказывают возможность применения БС для улучшения ростовых качеств и повышения урожайности в полевых условиях.

### Заключение

Анализ различных признаков показал положительную роль исследуемых гормонов в определенных концентрациях на рост, развитие, продуктивность и устойчивость к различным стресс-факторам двух культиваров. В частности, используя диапазон кон-

центраций растворов БС шире, чем в предыдущих исследованиях, за счет уменьшения концентрации до  $10^{-8}$  %, можно достичь положительного влияния на урожайность семян при одновременном снижении стоимости обработки. Также вычислили пик благоприятного действия на большинство морфометрических параметров гормоном ЭБ в концентрации  $10^{-7}$  %. Определили, что при повышении концентрации ЭБ и ГБ полевая всхожесть семян увеличивается (14–20 % от контроля), а при повышении концентраций ЭК – уменьшается.

Была выявлена сортоспецифичность действия БС. Изучая влияние brassinosteroidов на различные фенотипические признаки двух культиваров подсолнечника, можно заключить, что для мутантной линии М1 перспективным направлением является использование ЭБ  $10^{-7}$  % для повышения урожайности семян на 19,6 % при одновременном развитии короткостебельности, а у коммерческого сорта Е – ЭК  $10^{-8}$  % для повышения урожайности семян (47,2 %) при одновременном незначительном увеличении размеров и биомассы зеленых органов (стеблей и листьев).

Для эффективной адаптации растений на ранних стадиях развития, а также повышения урожайности семян и зеленой массы рекомендуется осуществлять предпосевную обработку семян подсолнечника одним из следующих растворов brassinosteroidов: ЭБ  $10^{-7}$  %, ГБ  $10^{-8}$  %, ЭК  $10^{-7}$  % и ЭК  $10^{-8}$  %.

Применение БС в физиологически активной концентрации, их экологическая безопасность, понимание молекулярных механизмов их деятельности, синтез естественных БС и их производных в скором времени позволят в полной мере использовать эти вещества в сельскохозяйственной практике, фиторемедиации, биоэнергетике и других сферах народного хозяйства, благодаря их специфическому ростостимулирующему действию, положительному влиянию на урожайность и на устойчивость растений к биотическому и абиотическому стрессам.

Для дальнейшего изучения сортоспецифического влияния brassinosteroidов целесообразно расширить спектр и уменьшить шаг тестируемых концентраций. Апробация будет продолжена в лабораторных и полевых условиях с исследованием некоторых биохимических параметров.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khripach, N. B. New practical aspects of brassinosteroids and results of their tenyear agricultural use in Russia and Belarus / N. B. Khripach // *Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity* / N. B. Khripach ; eds. S. Hayat, A. Ahmad. – Dordrecht : Kluwer Academic Publisher, 2003. – P. 189–230.
2. Dinan, L. Ecdysteroid structure-activity relationships / L. Dinan // *Studies in Natural Products Chemistry*. – 2003. – Vol. 29. – P. 3–71.
3. Zullo, M. Brassinosteroidphytohormones – structure, bioactivity and applications / M. Zullo, G. Adam // *Instituto Agrônômico, Centro de Recursos Genéticos Vegetais*. – 2002. – Vol. 144. – P. 181.
4. Kolbas, A. P. Phenotypic Traits and Development of Plants Exposed to Trace Elements / A. P. Kolbas. – Talence : University of Bordeaux, 2012. – 301 p.
5. Phenotypic seedling responses of a metal-tolerant mutant line of sunflower growing on a Cu-contaminated soil series: potential uses for biomonitoring of Cu exposure and phytoremediation / A. Kolbas [et al.] // *Plant and Soil*. – 2014. – No. 376. – P. 377–397.
6. ГОСТ 12038-84. Методы определения всхожести. – М. : Изд-во стандартов, 1984. – 56 с.

7. Голанцева, Е. Н. Адаптационные реакции яровой пшеницы при действии эпи-брасинолида в условиях засухи : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.12 / Е. Н. Голанцева. – М., 2006. – 123 л.
8. Руководство по культурам [Электронный ресурс] // Terres Inovia. – Режим доступа: <https://www.terresinovia.fr/>. – Дата доступа: 25.03.2019.
9. Luo, B. Zhiwu Shenglixue Tongxun. 1986. N 2. P. 14–17; Chem. Abstr. 1988. Vol. 108, 128609.
10. Перспективы возделывания подсолнечника в Республике Беларусь : сб. науч. ст. / науч. ред. В. В. Пешко. – Гродно, 2011. – 392 с.
11. Арчибасова, Я. В. Влияние брассиностероидов на изменение фенотипических признаков *Helianthus annuus* L. в лабораторных и полевых условиях : дис. ... магистра биол. наук : 1-31 80 01 / Я. В. Арчибасова. – Брест, 2018. – 50 л.
12. Morphological and functional responses of a sunflower metal-tolerant mutant line to a copper-contaminated soil series / A. Kolbas [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2018. – P. 1–16.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 29.04.2019

***Archybasava Ya. V., Kolbas A. P. Effect of Brassinosteroids on Morphometric Parameters Helianthus Annuus in the Field***

*The purpose of this study is to evaluate the effect of three brassinosteroids (epibrassinolide, homo-brassinolide and epikastasteron) at various concentrations on the growth parameters of mutant and commercial cultivar of Helianthus annuus L. in field conditions. Based on the results of the work done conclusions that using a range large than in previous studies due to a decrease the concentration to  $10^{-8}$ , it is possible to achieve a positive effect of the epikastasteron treatment on germination. Calculated the peak of the beneficial effect of epibrassinolide on most morphometric parameters. For effective adaptation of plants, as well as to increase the yield of seeds and green mass, it is recommended to carry out pre-sowing treatment of sunflower seeds with solutions of tested hormones.*