

МГУ имени М.В. Ломоносова

Кафедра агрохимии и биохимии растений

№ госрегистрации

УТВЕРЖДАЮ
Директор/декан

«__» _____ Г.

УДК

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Почва и почвенный покров России как основа её устойчивого развития.
по теме:

Изучение биологической эффективности регуляторов роста
ЭПИН-ЭКСТРА и ЦИРКОНА в технологии их применения на
сельскохозяйственных культурах
(заключительный)

Зам. директора/декана
по научной работе

«__» _____ Г.

Руководитель темы
Воронина Л.П.

«__» _____ Г.

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы:

ведущий научный сотрудник,
доктор биологических наук, до-
цент/с.н.с. по специальности

_____ (Воронина Л.П.)

Исполнители темы:

доцент, кандидат биологиче-
ских наук

_____ (Арзамазова А.В.)

инженер I категории

_____ (Колесникова С.Ф.)

ведущий научный сотрудник,

_____ (Морачевская Е.В.)

кандидат биологических наук

ассистент, кандидат биологи-
ческих наук

_____ (Павлов К.В.)

РЕФЕРАТ

Ключевые слова:

элементы питания, фазы вегетации, регуляторы роста растений, коричные кислоты, биомасса растений, 24-эпибрассинолид

Ключевые слова по-английски:

plant nutrients, vegetation phase, cinnamic acid, plant biomass, 24-epibrassinolide, plant growth regulators

Реферат. Отчет: 40 с., 1 часть, 5 рис., 11табл., 43 источников, 7 Приложений. Обсуждается влияние стероидного фитогормона 24-эпибрассинолида (24-ЭБ) и препарата «Эпин-Экстра», синтезируемого АНО «НЭСТ М», на рост и развитие растений. Рассматривается связь и эффективность его действия в зависимости от уровня естественного плодородия, его влияние на качество растительной продукции и некоторые аспекты его защитных функций при совместном применении с пестицидами, удобрениями и нетрадиционными органическими удобрениями. Оценка возможности использования стероидного фитогормона 24-ЭБ и препаратов на его основе для снижения токсического действия пестицидов на растения обосновывает необходимость их совместного использования. 24-ЭБ в концентрации 10^{-8} М с инсектицидом Актара оказывало протекторное действие, особенно в случае высоких концентраций пестицида. Установлены определённые закономерности его действия на продукционные процессы и зарегистрированы изменения в процессах кущения ячменя, что отражается на урожае зерна. Уровень минерального питания на разных типах почв (дерново-подзолистой и чернозёме) по разному влияет на экзогенное применение 24-ЭБ. Экзогенный 24-ЭБ (в концентрации 10^{-9} М - 10^{-7} М) обладает высокой биологической активностью. Экзогенное применение препаратов с д.в. 24-ЭБ ведёт не только к повышению урожая, но и улучшению качества сельскохозяйственной продукции: повышая содержание витаминов и сахаридов в корнеплодах, крахмала в картофеле, а также снижении концентрации нитратов в растительных продуктах. Результаты исследования 24-ЭБ как биологически активного вещества свидетельствуют о целесообразности изучения данных соединений с целью их рационального использования в практике сельского хозяйства.

ВВЕДЕНИЕ

Агрохимические препараты – минеральные удобрения (NPK) и химические средства защиты растений (ХСЗР), предназначенные для увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур, выполняют определённые функции в сложных природных системах, которыми являются агроценозы. Часто внесение этих химических компонентов порождает новые проблемы в биоценозах почвы, которые в свою очередь снижают продуктивность с/х производства. В последнее время множество исследований посвящено еще одному классу агрохимических средств – регуляторам роста растений (РРР). Эти биопрепараты – действующим веществом (д.в.) которых являются биологически активные вещества (БАВ) – выполняют трофические и экологические функции в агроценозе, влияют на интенсивность протекания физиологических процессов и поддерживают гомеостаз в растении. Способ, доза и срок их использования обусловлены их физиолого-биохимическими свойствами, которые не до конца изучены. Эффективность их действия зависит от многих факторов: климата, почвы, избытка или недостатка отдельных биофильных элементов, присутствия ксенобиотиков и др. Влияние на растение многих из них весьма специфично, а функциональная протекторная особенность может быть связана как со стимулирующим, так и ингибирующим их эффектом. Экзогенно используемые РРР в малых количествах могут существенно влиять на рост и развитие растений, адаптируя их реакцию к условиям окружающей среды. Некоторые из БАВ, являясь регуляторами роста и развития растений, контролируют и поступление питательных веществ из почвы в растение, а также отвечают за перераспределение их в органах растения и сопряжены с почвенной биотой. В целом для агроценоза, как и для экосистемы, важна и ещё не выяснена мембранная и барьерная роль почвы и фитомассы в процессах массопереноса (биофилов и биоцидов) в системе почва - растение. Значимая роль фитогормонов, которые являются БАВ, в этих процессах установлена. Экзогенное применение фитогормональных препаратов влияет не только на эндогенный гормональный статус растения, но, зачастую, изменяет и химический состав растения [Шакирова, 2001; Bajguz Andrzi, 2007; Lingyun Yuan et al., 2013]. Таким образом, при одних и тех же условиях РРР способны существенно изменять метаболизм растений. Это их свойство может быть использовано для корректировки как отдельного, так и совокупного их применения с NPK и ХСЗР при выращивании растений. С целью сохранения экологии агроценоза обосновано применение стероидного фитогормона - 24-эпибрасинолида (ЭБ), играющего важную роль в жизненном цикле растений. Особый интерес настоящих исследований заключается в изучении экологических и агрохимических особенностей действия ЭБ и препаратов на основе его действующего вещества, как представителя относительно нового класса брасиностероидных (БС) фитогормонов, в системе почва - растение. Работы в области изучения стероидных фитогормонов [Grove et al., 1979; Khripach et al., 2000; Li 2003; Szekeres, 2003; Андрианов, 2011; Wang et al., 2008] широко развиваются в разных странах, являются тематикой многих научных проектов. Характерная черта этих исследований – кооперация ученых разных специальностей. Наряду с научными изысканиями расширяется спектр практического использования брасиностероидов (БС). К числу основных научных исследований в области биологии относятся исследования механизма действия БС

[Fujioka, Yokota, 2003], их физиологической роли в растении [Авальбаев и др., 2006, Gendron & Wang, 2007], рецепции [Clouse, 2002, Wang, 2008], ингибированию [Аллагулова и др., 2007], белково-нуклеиновому, углеводному обмену и активности ферментов [Аллагулова и др., 2007, Орехова и др., 2007; Howell et al., 2007], влиянию на состояние плазматических мембран и участию БС в фотоморфогенезе [Core, 2006; Li, 2003], взаимодействию с другими фитогормонами [Mandava, 1988; Bajguz, 2007], и др. Эти и многие полевые и вегетационные результаты исследований [Колмыкова и др., 2012; Прусакова, Чижова, 1996, 2005] послужили основой их практического применения. Пока реакция растений, индуцированных ЭБ, далека от полного понимания и не всегда ведёт к устойчивому ответу. Необходимы детальные исследования процессов адаптации и механизмов детоксикации, связанных с использованием ЭБ в условиях изменяющихся факторов внешней среды (почва, климат, антропогенные факторы). Актуальным является изучение протекторных особенностей ЭБ в агроценозе, касающееся поступления радионуклидов, остаточных количеств пестицидов и тяжелых металлов (ТМ) в растения [Яхин, 2009; Avalbaev et al. 2010; Sharma & R. Bhardwaj, 2007; Sharma et al., 2016; Wang et al., 2017]. Многие из существующих результатов противоречивы и нуждаются в дополнительных экспериментальных данных. Для понимания и подтверждения протекторных механизмов действия ЭБ требуются дополнительные экспериментальные данные, что приведёт не только к развитию его теоретических аспектов, но и повысит эффективность практического использования. С целью интерпретации материалов, полученных по действию ЭБ, в случае полиметаллического загрязнения агроценоза ТМ целесообразным представлялось оценить его протекторные особенности и по отношению к отдельным элементам (Zn, Cd). Фактором антропогенного воздействия может выступать и агрохимический приём внесения минеральных удобрений, что может привести (особенно в периоды нестабильности абиотических факторов) к несбалансированности (дефициту или избытку) питания. В агроценозе существенным стрессовым фактором для растений остается применение ХСЗР. Представляется целесообразным рассматривать совокупное действие их с использованием ЭБ. Изучение воздействия на агроценозы РРР в совокупности с активно меняющимися факторами среды и антропогенными факторами, требует новых системных методологий. И как свидетельствуют существующие научные исследования и представленные в отчете результаты необходимо совершенствовать и изменить подход к регистрации БАВ (Исключить их из раздела пестицидов, а перевести в раздел биорациональных средств для агроценоза). Целью наших исследований было изучение защитных функций 24-эпибрассинолида и препаратов на его основе с учетом урожая и его качества.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1 Объекты и методы для раздела 2.1 – Защитное действие 24-эпибрассинолида в комплексе с пестицидами В лабораторных и полевых исследованиях были использованы 24-эпибрассинолид (производитель – ННПП “НЭСТ М”) и регулятор роста Эпин-Экстра на основе 24-эпибрассинолида как его действующего вещества. Выполнена серия лабораторных опытов по оценке методом фитотестирования токсичности тиаметоксама, являющегося д.в. препарата Актара. Инсектицид с действующим веществом тиаметоксам (5-метил-3-(2-хлортиазол-5-илметил)-1,3,5-оксадиазинан-4-илиден-N-нитроамин) применяется повсеместно. В РФ зарегистрирован препарат Актара – вододиспергируемые гранулы с содержанием действующего вещества 250 г/л. Инсектицид Актара имеет следующие показатели: ЛД₅₀ для пчел – 0.024 мкг/особь, СК₅₀ для дождевых червей *Eisenia foetida* – >1000 мг/кг почвы; СК₅₀ (96 ч, мг/л) для радужной форели – >100, для ушастого окуня – >114, для карпозубика – >111; СК₅₀ (48 ч) для дафний – >100 мг/л; СК₅₀ (96 ч) для зеленых водорослей – >100 мг/л. МДУ (мг/кг): в зерне хлебных злаков и картофеля – 0,02. Инсектицид контактного кишечного и системного действия, обладает длительным остаточным эффектом, активен против основных видов насекомых-вредителей сельскохозяйственных культур при обработке листьев или почвы в дозах 10–200 г/га, а также при протравливании семян в дозах 200 г/100 кг семян. Выполнена серия лабораторных экспериментов по разработанной методике [Практикум по агрохимии, 2001]. Тест-культурой служил редис (*Raphanus sativus*) сорта Жара. В одном эксперименте (опыт 1) семена заливали на 24 ч раствором 24-эпибрассинолида и растворами пестицида Актара в разных концентрациях, контролем служил вариант с дистиллированной водой. Далее семена раскладывали на фильтры в чашках Петри, смоченные водой (7 мл). В другом эксперименте (опыт 2) семена замачивали только в растворе 24-эпибрассинолида (контрольные – в воде) и затем помещали на фильтры, смоченные растворами Актара, после чего чашки помещали в термостат при температуре 24°C на 72 ч. Схемы экспериментов с соответствующими концентрациями растворов представлены в таблице 1.

Учет действия испытанных растворов проводили по изменениям (относительно контроля) длины проросших корней и высоты coleoptилей проростков. Повторность опыта четырехкратная. Рассчитывали средние величины показателей и их стандартное отклонение. Проведен расчет соотношения длины корней и coleoptилей проростков в опытных вариантах относительно контроля, принятого за 100%. Выполнен лабораторный эксперимент и проведены полевые исследования с применением пестицида Глин при совместном его использовании с регулятором роста растений Эпин-Экстра. Гербицид Глин (д.в. хлорсульфурон) (3-(6-Метил-4-метокси-1,3,5-триазинил-2)-1-(2-хлорфенилсульфонил) мочевины) выпускают в виде 75%-ной суспензии. Пестицид разрешен для борьбы с однолетними и многолетними двудольными сорняками, малотоксичен для теплокровных животных. Норма расхода – 0,015 кг/га. Хлорсульфурон (препарат глин) содержит триазиновую группировку и является самым высокоактивным из всех известных гербицидов. Его доза при обработке зерновых культур в полевых условиях составляет всего 5–60 г/га (обычно 10–20 г/га), т. е. он примерно в 100 раз

более активен, чем 2,4-Д. Хлорсульфурон ингибирует деление и рост клеток чувствительных к нему видов растений и не влияет на их фотосинтез и дыхание. Схема лабораторного опыта включала 2 варианта с разными концентрациями Эпин-Экстра и рекомендованной концентрацией глины (табл. 2).

Полевой опыт выполнен на дерново-подзолистых почвах ЦОС ВИУА "Барыбино". Учетная делянка – 4 м². Характеристика почвы представлена в таблице 3. Культура – картофель сорта Бронницкий. Достоинства сорта Бронницкого – высокая устойчивость к вырождению (т. е. поражению вирусными заболеваниями) и замечательные потребительские качества. Это крахмалистый сорт, хотя содержание простых сахаров в нем довольно низкое. Клубнеобразование у сорта Бронницкий начинается достаточно рано. Как правило, физиологическое созревание клубней наступает через 100–110 сут. после посадки, но при использовании пророщенных клубней этот срок сокращается до 70 сут. Сорт Бронницкий районирован в Московской, Брянской и других областях РФ.

В опыте были предусмотрены следующие варианты: контроль, варианты обработки растворами Эпин-Экстра разной концентрации (12,5 и 6,25 мг/га), вариант с обработкой Глином (согласно рекомендуемым нормам, 5-го июня), варианты с применением глины и дальнейшей (через 40 сут, 15-го июля) обработкой листьев растений раствором Эпин-Экстра разной концентрации (12,5 и 6,25 мг/га). Отбор и анализ почвенных образцов на фитотестирование проводили 29 июня, 29 июля и 29 сентября. Уборку и учет урожая осуществляли 30 сентября. В клубнях определяли содержание крахмала [Практикум по агрохимии, 2001].

1.2 Объекты и методы для раздела 2.2 - Влияние 24-эпибрассинолида и препаратов на его основе на показатели качества сельскохозяйственных культур

В лабораторных, вегетационных и микрополевых опытах исследовались разные препаративные формы с различным содержанием д.в.: «Эпин», «Эпин-Экстра», и 24-эпибрассинолид (синтезированный на химическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова совместно с ННПП НЭСТ М). Микрополевые опыты были выполнены с разными овощными культурами (морковь сорта Нантская, свекла столовая сорта Бордо-237) на очистных полях Одинцовского района с препаратом «Эпин» и Звенигородской биостанции МГУ на культурах картофель сорта Невский и морковь сорта Нантская с препаратом «Эпин-Экстра». 24-Эпибрассинолид использовали в серии опытов на картофеле сорта Невский на полях УОПЭЦ Чашниково, с культурой ячменя в вегетационных опытах и в серии лабораторных экспериментов. Характеристика дерново-подзолистых почв разного гранулометрического состава представлена в таблице 4. Кроме интегрального показателя (урожайности), в вегетативной массе и репродуктивных частях растений определяли содержание общего азота и некоторые показатели качества (в зависимости от культуры): концентрацию нитратов, содержание сахара, крахмала и аскорбиновой кислоты.

Выполнена серия лабораторных опытов на тест-культурах редиса и ячменя с 24-ЭБ с целью определения эффективности действия широкого спектра концентраций данного вещества и его связь с азотным обменом в растениях. Проводили определение нитратредуктазной активности (НРА) и белка (по Лоури) в ювенильных растениях ячменя.

Статистическую обработку проводили с помощью программы "MS Excel

2003" и прикладного пакета STATISTICA 6.0. Были определены общие статистические показатели: средние величины анализируемых показателей (М), стандартная ошибка среднего (m) и наименьшая существенная разность (НСР). Принятый в работе уровень значимости $\alpha = 0.05$.

1.3 Методы и материалы В ходе выполнения договорной работы по теме «ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРА РОСТА «ЭПИН-ЭКСТРА» обсуждались на конференциях, были подготовлены и опубликованы следующие материалы:

1.3.1 Патент #RU2645329C1. Авторы: Воронина Л.П., Морачевская Е.В. (2018) Способ адаптации зерновых культур в процессе вегетации к неблагоприятным и экстремальным факторам среды путем комбинированного использования фитогормонов. (Приложение А).

1.3.2 Публикация к патенту: Воронин Л.П., Морачевская Е.В. (2018) Способ адаптации зерновых культур в процессе вегетации к неблагоприятным и экстремальным факторам среды путем комбинированного использования фитогормонов. Описание изобретения к патенту 2 645 329 // в сборнике Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели», серия 6, место издания Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам, Федеральный Институт Промышленной Собственности. Москва. (Приложение Б).

1.3.3 Статья в сборнике: Воронина Л.П., Морачевская Е.В. (2018) Роль 24-эпибрасинолида в регуляции качества с/х продукции // Материалы XIV Международной научно-практической конференции "Биологически активные препараты для растениеводства" daRostim 2018, с. 58-59, БГУ Минск. (русский язык). (Приложение В).

1.3.4 Устный доклад: Воронина Л.П., Морачевская Е.В. (2018) Роль 24-эпибрасинолида в регуляции качества сельскохозяйственной продукции (русский язык) // 14 Международная научно-практическая конференция "Биологически активные препараты для растениеводства daRostim 2018", Минск, Беларусь, 3-8 июля 2018. (Приложение Г).

1.3.5 Устный доклад и тезисы: Morachevskaya E.V., Voronina L.P., Kesler K. (2018) The role of natural compounds for agrochemical practice (английский язык) // International Soil Science Congress on "Environment and Soil Resources Conservation", Almaty, Казахстан, 17-19 октября 2018. (Приложение Д).

1.3.6 Статья в журнале (английский язык): Voronina L.P., Malevannaya N.N. (2018) The Effect of 24-Epibrassinolide and Its Products on the Content of Total, Protein, and Nitrate Nitrogen in Plants // в журнале Moscow University Soil Science Bulletin, издательство Allerton Press Inc. (United States), том 73, № 5, с. 37-42. (Приложение Е).

1.3.7 Статья в сборнике трудов: Сборник трудов всероссийской конференции с международным участием «Агрохимия в XXI веке». (2018) Морачевская Е.В., Воронина Л.П. Роль природных соединений в агрохимической практике. 2018. С.5-7. (Приложение Ж).

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2.1 Защитное действие 24-эпибрасинолида в комплексе с пестицидами Пестициды являются агентами высокой опасности для человека и служат основой многих проблем экологического порядка. В нашей работе уделено внимание эффективному применению брасиностероидов, сопряженному с активацией различных механизмов, для снижения негативного действия пестицидов. Многие авторы приводят результаты своих исследований и отмечают, что в зависимости от вида пестицида специфика экзогенного действия БС индуцирует разные защитные механизмы [Ahmed, et al. 2012; Anket Sharma, Kumar, et al., 2016; Sharma, Bhardwaj, et al., 2016]. Использование в фитосанитарных технологиях биологически

активных веществ, к которым относится 24-эпибрассинолид, является перспективным приемом снижения вредоносности фитопатогенов [Лутова, Шумилина, 2010]. Этот прием получил название фитоиммунокоррекции. Механизм действия 24-эпибрассинолида заключается в его элиситорных свойствах. Выступая в роли иммунокорректора, он вызывает усиление иммунного статуса растения, а также повышает ростовую активность, улучшает качественные показатели, усиливает устойчивость к повреждениям и вредителям [Алехин, 2010]. Препарат Эпин-Экстра (д.в. 24-эпибрассинолид) оказывает защитное действие против возбудителей корневой гнили. Благодаря стимуляции роста и генеративному развитию, а также повышению стрессоустойчивости растений, Эпин-Экстра значительно увеличивает ранний и общий урожай, а также обладает росторегулирующим, иммунокорректирующим и антистрессовым действием [Прусакова и др. 2005, Будыкина и др., 2012, Syed Ali Fathima, et al., 2011; Ahammed, Li et al., 2015]. В первой серии экспериментов мы изучали влияние разных концентраций препарата Актара (д.в. тиаметоксам) и рабочих растворов 24-эпибрассинолида. Хорошую (>25%) активность показал 24-эпибрассинолид в концентрации 10–8М, которая была использована и при совместном применении с инсектицидом. Исследования разных концентраций препарата Актара свидетельствовали об устойчивой фитотоксичности (по тест-показателям – длине корней и колеоптилю биотеста) этого препарата в концентрациях >0,05 мг/л (рис. 1). Токсичность Актара в фитотесте проявлялась на высоком уровне ($\geq 40\%$) в широком интервале концентраций. Причем при высокой концентрации д.в. (0,1 и более) токсичность была значительной (порядка 80%), с увеличением концентрации в 2 раза (до 0,2 мг/л) её показатели увеличивались еще на 10 и более %. В интервале концентраций от 0,025 до 0,05 мг/л показатель токсичности существенно не изменялся и соответствовал уровню 60–70% (табл. 5).

В предварительной серии экспериментов с чистыми веществами установили рабочие концентрации препарата Актара и ЭБ для их совместного испытания в следующей серии экспериментов. Семена тест-растений редиса замачивали предварительно на 24 ч в растворе ЭБ (10–8 М). Затем семена подсушивали и помещали в чашки Петри с разными концентрациями Актара: 0.05 и 0.1 мг/л. Необходимо отметить, что по результатам фитотестирования в серии данных экспериментов, как и в предыдущих, влияние меньшей концентрации Актара в биотесте не отличалось от действия более высокой концентрации (больше в 2 раза), при этом токсичность препарата была на уровне 60% и более.

При совместном использовании инсектицида с 24-ЭБ установлено его позитивное влияние на показатели тест-культуры. При совместном его использовании с препаратом Актара в большей концентрации (0.1 мг/л) протекторное действие ЭБ было выражено более значимо (рис. 2). При концентрации Актара 0.05 мг/л действие ЭБ характеризовалось лишь незначительным снижением токсичности: на 8% по тест-показателю длины корня и на 5% – по высоте проростков. Предварительная обработка семян ЭБ на фоне более высокой концентрации Актара (0.1 мг/л) произвела существенно больший эффект, увеличив длину корней тест-культуры на 19% (токсичность снизилась с 60% до 41%) и высоту проростков на 21% (с 73 до 42%) (рис. 2). Таким образом, совместное использование 24-эпибрассинолида в концентрации 10–8 М с инсектицидом Актара оказывало протекторное действие,

которое зависело от концентрации д.в. рабочих растворов препаратов. Существенное позитивное влияние проявлялось при больших концентрациях остаточных количеств препарата Актара.

Другим пестицидом, который исследовали при совместном действии с 24-ЭБ, являлся хлорсульфурон, ингибирующий деление и рост клеток растений, а также гербицид глин на основе этого действующего вещества. В лабораторном эксперименте обработка семян тест-растений ЭБ в концентрации 10–5 М снимала токсичность, вызванную хлорсульфуроном, более чем на 10% по тест-показателям (рис. 3).

В полевом опыте применение 24-ЭБ также оказало влияние на урожайность клубней картофеля и их качество. Обработка картофеля в фазе начала цветения препаратом Эпин-Экстра привела к достоверному увеличению урожайности, независимо от концентрации ЭБЛ. Использование более концентрированного раствора 24-ЭБ (12.5 мг/га) для обработки картофеля в фазе бутонизации привело к увеличению урожайности на 38.4 ц/га, концентрации 6.25 мг/га – на 23.2 ц/га (табл. 6). Применение Глина способствовало уничтожению сорной растительности в опыте, но не отразилось на урожайности в целом. Однако его применение в начале вегетации и последующая обработка листьев картофеля Эпином-Экстра в концентрации 12.5 мг/га привели к снижению урожайности, а обработка в более низкой концентрации 6.25 мг/га не изменила его величину.

Кроме того, важным этапом исследования явилось изучение влияния препарата Эпин-Экстра на показатели суммарной токсичности, обусловленной применением Глина, и качество урожая картофеля. Необходимо отметить, что анализ почвенных образцов спустя 14 сут. после применения Глина не выявил суммарной токсичности в почве. Результаты последующих анализов – через 14 сут. после обработки ЭБ и соответственно через 54 сут. после применения Глина, а также в период уборки урожая (еще через 40 сут.) – приведены в таблице 7. Результаты показали, что слабая токсичность (14%) отмечена в образцах лишь на 65-е сут. после применения гербицида, что, возможно, свидетельствовало о его опосредованном действии.

Совместное применение Глина и регулятора роста Эпин-Экстра снимало проявление фитотоксичности гербицида в почве и вызвало стимуляцию роста фитотеста на 14 и 41% через 105 сут. в вариантах совместного применения Глина и Эпин-Экстра в концентрации 12,5 и 6,25 мг/га соответственно. Более существенная стимуляция роста фитотеста отмечена в вариантах применения одного Эпин-Экстра без гербицида: при применении более высокой его концентрации (12,5 мг/га) через 65 сут. стимуляция соответствовала 25%, через 105 сут. – 32%, при использовании концентрации 6,25 мг/га – 11 и 18% соответственно. То, что более активное протекторное воздействие оказывала низкая концентрация Эпина-Экстра при применении совместно с гербицидом, согласуется и с урожайными данными и является интересным фактом, требующим дальнейшего изучения. Результаты фитотестирования конечной продукции (клубней картофеля) показали стимулирующее действие гербицида на фитотест (26% от контроля), а его использование в комплексе с Эпином-Экстра усиливало этот эффект (50 и 61% соответственно дозе регулятора роста). Изменение качества клубней картофеля зависело от применения регулятора роста и гербицида. Содержание крахмала в клубнях при использовании Глина снижалось, применение Эпина-Экстра совместно с гербицидом существенно увеличивало этот

показатель (с 18 до >20%). Положительное действие оказывала и обработка растений картофеля в ходе вегетации только регулятором роста, преимущество показал вариант с применением высокой концентрации Эпина-Экстра (12.5 мг/га) (рис. 4).

Изучение влияния 24-эпибрассинолида (ЭБ) в концентрации 10–8М совместно с инсектицидом Актара (д.в. тиаметоксам, обработка до применения инсектицида) показало его протекторное действие, которое было обусловлено снижением суммарной токсичности после применения инсектицида. Эффект этого воздействия зависел от концентрации д.в. инсектицида. В использованной концентрации 24-ЭБ оказывал существенное позитивное влияние на последствие более высокой концентрации препарата Актара. Положительное действие 24-эпибрассинолида при совместном использовании с гербицидом Глин (д.в. хлорсульфурон) в лабораторных экспериментах подтвердилось в полевых опытах при выращивании картофеля сорта Бронницкий. Обработка листьев растений в фазе бутонизации препаратом Эпин-Экстра (д.в. – 24-эпибрассинолид) после применения гербицида показала его протекторное действие, которое отражалось на качестве урожая. Степень проявления положительного действия Эпина-Экстра зависела от использованной концентрации, которая не должна превышать 6,25 мг/га. Фитогормоны, в частности брассиностероиды, не способны заменить инсектициды, особенно при увеличении количества атак вредителей. Однако применение пестицидов, которые являются стрессовым фактором для растения, совместно с физиологически активными веществами, обладающими антистрессовым действием, усиливает их биологическую эффективность и снижает опасность экологических нарушений.

2.2 Влияние 24-эпибрассинолида и препаратов на его основе на показатели качества сельскохозяйственных культур

Понимание сложных сигнальных взаимосвязей и особенностей биосинтеза в зависимости от видоспецифичности и условий служит объяснением большого разнообразия физиологических реакций растений на экзогенные брассиностероиды. [Аллагулова и др. ,2007; Janeczko, Swaczynová, 2010; Авальбаев и др. 2010; Gyung-Tae Kim, et al., 2005]. Известен путь биосинтеза брассинолида, как наиболее активного соединения этого класса [Grove et al., 1979; Khripach et al., 2000]. Препараты, действующими веществами которых являются природные брассиностероиды и их аналоги, находят все более широкое применение в сельском хозяйстве. Например, на рынке России в настоящее время зарегистрирован и используется в сельскохозяйственном производстве препарат «Эпин-Экстра» (производитель ННПП «НЭСТ М»). Действующим веществом препаратов является фитогормон 24-эпибрассинолид. В Республике Беларусь производится препарат «Эпин» (разработанный в Институте биоорганической химии НАН Беларуси). С этим же д.в. выпускают препарат Тиан Фан Су («Дар небес») в Китае, «Витазим» в США, канадская компания Scientific Plant Product (продукция на основе научных достижений) в качестве агропрепарата предлагает брассинолид в виде 0,1%-ого раствора, выпускают препарат в Сербии и других странах Евросоюза [Малеванная, 2007]. Эти препараты являются препаратами нового поколения, предназначенными для повышения урожайности и качества сельскохозяйственной продукции и повышения устойчивости культур к неблагоприятным факторам внешней среды. Поэтому в ходе исследовательской работы с препаратами, имеющими разную формуляцию, всегда целесообразно вводить в качестве дополни-

тельного контрольного варианта, вариант с чистым биологически активным веществом – 24-ЭБ. Препараты с 24-ЭБ в качестве д.в. не только оказывают положительное действие на урожай, но влияют и на качество сельскохозяйственной продукции. Уже в материалах 2-ого Всесоюзного совещания 1991 по брассиностероидам, проходившего в г. Минске, особое внимание привлекали публикации, касающиеся влияния эпибрассинолида на качество сельскохозяйственных культур: синтез сахарозы в сахарной свекле, накопление нитратов в овощной продукции и другие характеристики [Материалы..., 1991. Минск]. В настоящее время существует множество доказательств положительного влияния 24-ЭБ на показатели качества сельскохозяйственной продукции, в частности белки [Воронина, Минеев 2009., Lingyun Yuan, et al. 2010] и углеводы [Lingyun Yuan, et al. 2010]. Это с одной стороны, является веской причиной внедрения данного вещества в сельскохозяйственную практику, а, с другой стороны, вызывает теоретический научный интерес, указывая на роль 24-ЭБ в углеводном и азотном обмене. Установлено влияние 24-ЭБ на поступление азота из удобрений, содержание белкового азота в зерновых культурах; имеются данные, свидетельствующие об увеличении синтеза аминокислот при использовании экзогенного 24-ЭБ, во многих работах подчеркивается его участие в регуляции нитратредуктазной активности [Воронина, Минеев. 2009, Hayat, Ahmad, 2003, Syed Aiman Hasan, et al. 2013]. Результаты исследований ряда авторов указывают на снижение содержания нитратов, например, в клубнях картофеля, обработанных препаратами («Эпин», «Эпин-Экстра»), и предполагают, что происходит равномерное поступление азота в растения [Засорина, 2010; Гаврилец, 2014]. Изучение влияния 28-гомобрассинолида в виде водного раствора разных концентраций (10-10-10-6М) с различными сроками обработки семян (4, 8 и 12 час) показало увеличение нитратредуктазной активности чечевицы. В разные сроки отбора растительных образцов (60, 90 и 120 сутки) она изменялась с 61 до 111 нМол NO₂ г-1 час-1 на контроле и с 87 до 138 на опытном варианте (концентрация 10-8М) и увеличивалась урожайность чечевицы [Hayat, Ahmad, 2003]. Препарат «Эпин-Экстра» оказывает и антибактериальное действие на некоторые виды бактерий (выбраны условно-патогенные штаммы бактерий — *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, а также выделенная из почвы *Bacillus megaterium*.. Получены результаты по антибактериальной активности регулятора роста растений, что является дополнительным подтверждением защитной роли 24-ЭБ. Причем разные концентрации данного препарата обладали различной степенью активности в отношении некоторых видов бактерий [Астафьева и др., 2015]. Настоящее исследование нацелено на изучение участия 24-ЭБ и препаратов на его основе, прежде всего, в азотном обмене по характеристике общего, белкового и минерального (нитратного) азота, а также определение изменений по содержанию в исследуемых культурах аскорбиновой кислоты, углеводов, пигментов. Представлены результаты полевых экспериментов на овощных культурах с применением препаратов «Эпин» и «Эпин-экстра», вегетационные опыты с культурой ячменя и лабораторные опыты с тест-культурами (24-ЭБ). В полевых опытах с овощами (морковь и свекла столовая), которые активно накапливают в корнеплодах нитратный азот, при применении «Эпина» содержание нитратов снижалось, а урожай увеличивался (табл.8). В контрольном варианте уровень нитратов в моркови достигал 400мг/кг, а в корнеплодах свеклы приближался к 2000 мг/кг, что почти соответство-

вало по моркови и превышало для свеклы предельно допустимый уровень по нитратам в овощной продукции. При применении препарата наблюдали существенное снижение уровня нитратов в корнеплодах (ниже установленных нормативов). Максимально-допустимые уровни содержания нитратов в свежем продукте для моркови и картофеля – 250 мг/кг, а для свеклы 1400мг/кг. Однако не всегда это было достигнуто в надземной зелёной массе, что, скорее всего, связано с высоким содержанием азота в почве (за счет многолетнего внесения ОСВ) и синтезом азотистых соединений в растении, не прекращающемся даже к периоду созревания корнеплодов. Другие показатели качества корнеплодов, выращенных с применением «Эпина», также улучшились. Так, в моркови более активно накапливается аскорбиновая кислота (с 2,37 до 2,50 мг%). Как в моркови, так и в свекле при применении «Эпина» было отмечено увеличение содержания сахара в корнеплодах. В моркови содержание сахара возросло до 7,5%, а свекле – до 5,8% по сравнению с контрольными значениями 5,6 и 4,7 соответственно (табл.8).

На полевых площадках (Одинцовская р-н и Звенигород), менее обеспеченных основными элементами питания, чем в представленных выше, содержание нитратов в корнеплодах моркови было более низким, однако и в этих условиях при обработке растений «Эпином-Экстра» наблюдали достоверное влияние на уровень нитратов и содержание сахара в корнеплодах. Содержание нитратов снизилось с 228 до 173,5 мг/кг, а содержание сахаров повысилось с 6,45 до 7,95%. В картофеле под действием «Эпин-Экстра» повысилось содержание крахмала (с 12,5 до 14,5 мг/100г), а содержание нитратов в клубнях практически не изменилось (контроль 352 мг/кг и опытный вариант 311 мг/кг). Масса корнеплодов моркови и клубней картофеля – повысилась с 21,3 до 28,2 т/га и с 19,3 до 20,5 т/га, соответственно (табл.9).

В другом полевом опыте (Солнечногорский р-н., Чашниково) содержание нитратов в клубнях картофеля (сорта Невский) снизилось с 415 до 321 мг/кг, причем снижение нитратов зафиксировано и в надземной массе (ботве). Увеличился процент сухого вещества. Урожай картофеля повысился на 38% (табл. 10). Все эти закономерности, которые установлены в полевых опытах, свидетельствуют о позитивном действии от применения 24-ЭБ.

Положительное влияние экзогенного применённого фитогормона, по видимому, связано, прежде всего, с его воздействием на основные обменные процессы в растении. Установлено усиление синтеза углеводов, который теснейшим образом связан с фотосинтезом, следовательно и с динамикой пигментов, в частности, хлорофиллом. Доказана взаимосвязь этого фитогормона и с азотным обменом. Дискуссии по влиянию 24-ЭБ на содержание нитратов в растении продолжаются [Селиванова, 2015,]. Результаты экспериментов одних авторов свидетельствуют, что «применение регулятора роста «Эпин-экстра» приводило к накоплению нитратов в корнеплодах. Однако в случае его сочетания с другими препаратами (Циркон, Силиплант) этот эффект снижался» [Зольникова., Постников, 2015]. Анализ экспериментального растительного материала по оценке действия фитогормона на содержание нитратного азота необходимо проводить с учетом фазы вегетации растения, с оценкой характера распределения нитратов в разных органах растения и другими особенностями растений и условий их развития. Так, в экспериментах, выполненных другим коллективом авторов, отмечается увеличение концентрации NO₃-ионов в побегах и корнях огурца, но не в плодах [Lingyun Yuan et al, 2012]. В случае избытка азота, вызванно-

го дополнительным внесением соли $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ сопровождавшегося значительным скоплением нитратов в побегах и корневой системе (увеличение в 1,76 и в 1,58 раза) применения 24-ЭБ заблокировало процесс увеличения содержания нитратов. Таким образом, в условиях стресса проявляется защитное действие фитогормона, что отмечается и в работах других авторов [Будыкина и др., 2012]. Наблюдаемое снижение активности нитратредуктазы под действием кадмия регулируется применением 24-ЭБ, улучшая все атрибуты: активность ферментов, работу протонного насоса плазматической мембраны, приводящих к усилению поглощения растением азота [Syed Aiman Hasan et al. 2013]. Результаты нашего лабораторного эксперимента по оценке действия разных концентраций 24-ЭБ на ряд показателей ячменя (содержание N, содержание хлорофилла и каротиноидов, определение нитратредуктазной активности) подтверждают важную роль 24-ЭБ в азотном метаболизме растений (табл.11). Применение 24-ЭБ сопровождалось увеличением содержания азота в диапазоне всех испытуемых концентраций, достоверные изменения по активности нитратредуктазы находятся в интервале концентраций 24-ЭБ от 10^{-7} М до 10^{-9} М. Общее содержание хлорофиллов и каротиноидов увеличивается в концентрациях 10^{-8} М и 10^{-9} М, а также и в более низкой концентрации 10^{-11} М. Установленные закономерности могут служить подтверждением положительного экзогенного действия 24-ЭБ на процессы фотосинтеза, а следовательно синтеза углеводов и мобилизацией азота для синтеза аминокислот и белков. Снижение содержания в репродуктивных органах нитратной формы азота, учитывая тот факт, что они оказывают положительное действие на процессы синтеза белков (о чем свидетельствуют вегетационные опыты с ячменём) может быть связано с усилением синтеза запасных белков.

Таким образом, экзогенный 24-ЭБ (в концентрации 10^{-9} М - 10^{-7} М) обладает высокой биологической активностью. Экзогенное применение препаратов с д.в. 24-ЭБ ведёт не только к повышению урожая, но и улучшению качества сельскохозяйственной продукции: повышая содержание витаминов и сахаридов в корнеплодах, крахмала в картофеле, а также снижению концентрации нитратов в растительных продуктах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментов подтвердилась полифункциональность экзогенного действия 24-эпибрассинолида (представителя класса брассикостероидных фитогормонов) и препаратов на его основе. Установлено позитивное его действие на урожай ячменя, качество картофеля, корнеплодов (столовая свекла, морковь) и защитное действие в условиях его совместного использования с пестицидами. Установлено, что обработка 24-ЭБ в фазу «начало кущения» снижает кущение растений ячменя. Более выражено это проявилось в случаях лучшей обеспеченности элементами питания. Сокращение числа побегов кущения под действием 24-ЭБ позволило добиться лучшего вызревания колосьев и увеличения продуктивности. В экспериментах с выращиванием ячменя на разных типах почв (дерново-подзолистой и черноземе), с разным уровнем естественного плодородия было установлено, что 24-ЭБ не повлиял на формирование биомассы соломы в фазу восковой спелости, но его действие отразилось положительно на конечном урожае зерна. На дерново-подзолистой почве масса зерна увеличилась на 20%, на черноземе – на 45%. Такой положительный эффект получен вследствие влияния 24-ЭБ на процессы поглощения питательных элементов и, прежде всего, азота и увеличением синтеза белка в зерне (более 20%). Экзогенный 24-ЭБ (в концентрации 10-8М) обладает высокой биологической активностью. Установлены закономерности положительного экзогенного действия 24-ЭБ на процессы фотосинтеза, следовательно, синтеза углеводов и мобилизацию азота для синтеза аминокислот и белков. Экзогенное применение препаратов с д.в. 24-ЭБ ведёт не только к повышению урожая, но и улучшению качества сельскохозяйственной продукции: повышая содержание витаминов и сахаридов в корнеплодах, крахмала в картофеле, а также снижению концентрации нитратов в растительных продуктах. Снижение содержания в репродуктивных органах нитратной формы азота, связано с усилением синтеза запасных белков в конечной растительной продукции и влиянием 24-ЭБ на рост активности нитратредуктазы в листьях. Изучение влияния 24-эпибрассинолида (24-ЭБ) в концентрации 10-8М совместно с инсектицидом Актара (д.в. тиаметоксам, обработка до применения инсектицида) доказало его протекторное действие, которое было обусловлено снижением суммарной токсичности после применения инсектицида. Эффект этого воздействия зависел от концентрации д.в. инсектицида. В использованной концентрации 24-ЭБ оказывал существенное позитивное влияние на последствие более высокой концентрации препарата Актара. Положительное действие 24-эпибрассинолида при совместном использовании с гербицидом Глин (д.в. хлорсульфурон) в лабораторных экспериментах подтвердилось в полевых опытах при выращивании картофеля сорта Бронницкий. Защитное действие Эпин-Экстра (д.в. – 24-эпибрассинолид) используемого фолиарно в фазе бутонизации подтвердилось повышением результатов по характеристикам качества урожая. Степень проявления положительного действия Эпина-Экстра зависела от использованной концентрации, которая не должна превышать 6.25 мг/га.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
Объем финансирования темы в 2018 году
Таблица А.1

Источник финанси- рования	Объем (руб.)	
	Получено	Освоено собственными силами
Хоздоговор	375 000,0	375 000,0