

БИОСТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

*Бабурина М.И.¹, канд. биол. наук, Зарубин Н.Ю.¹,
Горбунова Н.А.¹, канд. техн. наук, Иванкин А.Н.², д-р хим. наук,
Зарубина А.Н.², канд. техн. наук, Леонтьев П.К.²*

¹ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем
им. В.М. Горбатова РАН», Российская Федерация, г. Москва
²НИУ «Московский государственный технический университет
им. Н.Э. Баумана», Российская Федерация, г. Москва

Аннотация. Изучен процесс стимулирования развития семян сельскохозяйственных культур, в качестве модельных объектов которых использовали быстро прорастающие семена фасоли и горчицы. Стимулирование осуществляли в присутствии комплексных органических биостимуляторов на основе ферментативного и кислотного гидролизатов животного сырья в сравнении с известным зарубежным стимулятором. Установлено выраженное влияние использованных стимуляторов на скорость прорастивания семян растений и дальнейшее формирование зеленой биомассы.

Ключевые слова: стимуляторы роста растений, кислотный гидролизат (КГ), ферментативный гидролизат (ФГ), стимулятор Аминозол (Германия).

GROWTH BIOSTIMULATORS OF PLANT CELLS

*Baburina M.I.¹, Cand. Sc. (Biol.), Zarubin N.Yu.¹,
Gorbunova N.A.¹, Cand. Sc. (Tech.), Ivankin A.N.², Dr. Sc. (Chem.),
Zarubina A.N.², Cand. Sc. (Tech.), Leont'ev P.K.²*

¹V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of
Sciences, Russian Federation, Moscow

²FSBEI HE «Bauman Moscow State Technical University»,
Russian Federation, Moscow

Abstract. The process of stimulating the development of seeds of agricultural crops was studied; their rapidly germinating bean and mustard seeds were used as model objects. Stimulation was carried out in the presence of complex organic biostimulants based on enzymatic and acid hydrolysates of animal raw materials in comparison with the well-known foreign stimulator. The pronounced effect of the stimulants used on the rate of germination of plant seeds and the further formation of green biomass has been established.

Keywords. plant growth stimulants, acid hydrolyzate (CG), enzymatic hydrolyzate (FG), Aminosol stimulator (Germany)

Проблема стимулирования развития и роста биологических объектов представляет сегодня магистральное направление сельскохозяйственного производства. Современные технологии ускорения роста биомассы растительного, микробного или животного происхождения, как правило, построены на применении специальных стимулирующих регуляторов [1, 2].

Учитывая, что скорость роста «зеленой» биомассы в южных регионах планеты во много раз больше, чем в большинстве северных регионов нашей страны, задача ускорения развития и роста растений становится важнейшим технико-экономическим показателем сельскохозяйственной деятельности [3, 4].

Вопрос стимулирования роста растений достаточно сложный и включает в себя несколько важных аспектов. Во-первых, растениям необходимо комплексное и полноценное питание. Как правило, это достигается применением различных удобрений, в качестве которых традиционно используют смеси неорганических солей, содержащих жизненно важные для развития растений катионы и анионы [5-7].

Высокой питательной эффективностью обладают некоторые органические соединения, например, мочевины, производные гуанидина, а также различные органические удобрения, получаемые в результате естественного или принудительного компостирования природного сырья [8, 9].

Другим важным аспектом, существенно влияющим на рост растений, кроме основных параметров развития (температура, освещенность, спектральный состав естественного облучения, влажность и pH среды, газовый состав окружающей атмосферы) является микробиологический статус развития поверхностных культур. Известно, что вездесущее распространение микрофлоры может, как подавлять, так и стимулировать рост биологических объектов [8, 10].

Например, интенсивное развитие группы клубеньковых бактерий, являющихся нитрифицирующими микрообъектами, способствует прямому превращению азота воздуха в связанный азот, из соединений которого растение может активно развивать дальнейшие внутренние биохимические процессы, особенно в присутствии липидных продуктов животного происхождения [11].

Аналогично возможно влияние микрофлоры на метаболизм кислорода и углекислого газа, а также воздействие на процесс активного или пассивного фотосинтеза.

В случае положительного влияния микрофлоры на рост растений, в простейшем варианте использование активных питательных веществ, или компонентов – активаторов, может во многом способствовать развитию полезной растительной культуры. В этом случае, достаточно эффективно могут проявлять себя вещества, необходимые для роста именно микроорганизмов, в частности аминокислот, некоторых низких жирных кислот, простейших сахаров – т.е. тех веществ, из которых микрообъекты, влияющие на рост растения, строят свою внутреннюю биомассу – белки, жиры, углеводы и полинуклеотиды.

Химические и биохимические вещества, стимулирующие рост растений условно по механизму действия обычно делятся на три группы. Первая – индуцирующие вещества, наличие которых в биологической системе может включать биохимические процессы, обычно не протекающие или протекающие очень медленно в отсутствие индуктора. Вторая группа – это стимуляторы, которые активируют и в значительной степени усиливают уже протекающие биопроцессы. В большинстве случаев четкого разделения этих функций нет и, как правило, оба механизма могут проявляться одновременно. Третья группа может

выступать в качестве питательных и конструкционных элементов для построения структурных органов биообъекта.

Масштабное применение химии в современном интенсивном сельскохозяйственном производстве делает очень важной стороной этого производства экологические аспекты. Это особенно значимо при применении регуляторов роста растений, которые, как правило, являются мало токсичными соединениями. У них невыраженная видовая чувствительность, они являются малотоксичными соединениями, отсутствуют кумулятивные свойства по накоплению в биообъектах в течение длительного срока применения, но, при этом, они обладают широким спектром биологического действия.

Современная наука создает регуляторы нового поколения, которые могут действовать на растения в очень малых дозах, в количествах всего нескольких миллиграммов на площади в 1 гектар. Низкие концентрации применения стимуляторов являются важнейшим фактором защиты окружающей среды.

При большом разнообразии существующих природных и синтетических регуляторов роста, механизм действия многих из них до конца не изучен и требуется проведение дальнейших исследований с целью поиска путей повышения продуктивности сельскохозяйственных культур. Поэтому рассматриваемая тема является актуальной.

В литературе имеется значительный массив данных по разработке и применению различных стимуляторов.

Создание эффективных биостимуляторов стало сегодня фактически новым направлением в области разработки препаратов для регуляции роста и защиты растений. Высокая физиологическая активность, положительное влияние на выход получаемой продукции, доступность природного сырья, в качестве которого могут быть использованы различные источники животного, растительного и морского происхождения, технологичность производства, как правило, низкая токсичность и себестоимость биостимуляторов – все это обуславливает значительные перспективы их использования в растениеводстве.

Несмотря на интенсивные исследования в данном направлении, реально применяемый перечень стимулирующих веществ является достаточно ограниченным. Поэтому, целью данного исследования было выявить основные особенности влияния разработанных на основе неорганических и органических компонентов интенсификаторов на растительные объекты с достаточно быстрым развитием, переходящим из семян, находящихся в состоянии покоя в растительные объекты с частично и полностью развитой органической структурой.

Объекты и методы исследования. В качестве модельных объектов исследования использовали быстропрорастающие семена фасоли *Phaseolus vulgaris* (L.) Savi., а также семена горчицы салатной, листовой *Brassica juncea* L., которые перед использованием сохраняли в течение 1 мес при +4°C .

Семена фасоли замачивали в растворах стимулятора или воде в течение 6 час, набухшие семена помещали в чашки Петри на смоченные бумажные вкладыши и выдерживали в камере с прозрачными стеклянными стенками в течение 4 сут, периодически увлажняя подложки. Пророщенные семена фасоли пе-

ресаживали в тепличный грунт и фиксировали развитие корневой системы на 5-е сут.

Семена горчицы для наблюдения скорости прорастания выдерживали в чашках Петри на смоченных, периодически увлажняемых подложках из бумажных вкладышей, и выдерживали в камере 3 сут.

Для изучения влияния регуляторов роста на начальные этапы прорастания семян культур использовались разработанные белковые кислотные (КГ) и ферментативные гидролизаты (ФГ) из животного сырья. Гидролизаты КГ и ФГ растворимы в воде, обладают высокой биологической эффективностью и широким спектром действия при низких концентрациях. Гидролизаты нетоксичны для теплокровных и не обладают ДНК – повреждающей и мутагенной активностью в широком диапазоне концентраций [12, 19-22]. Для сравнения использовали также известный органический регулятор роста – Аминозол (Германия). Использовали растворы стимуляторов, разбавленные водой питьевой в соотношении 1:100.

Гидролизаты ФГ и КГ представляют собой пептидно-аминокислотные смеси, полученные путем ферментативного или кислотного гидролиза животного сырья. КФ содержит свободные аминокислоты, %: Иле 0,5; Лей 1,7; Лиз 1,4; Мет 0,5; Цис 0,4; Фен 0,7; Тир 1,2; Тре 0,4; Трп 1,2; Вал 1,5; Ала 0,8; Арг 2,6; Асп 1,3; Гис 1,3; Гли 0,4; Глу 7,4; Про 3,2; Сер 0,6; всего 28. В состав КФ также входит около 60% пептидов с молекулярной массой 2–250 кДа.

В КГ содержание свободных аминокислот, %: Иле 4,7; Лей 5,5; Лиз 4,8; Мет 1,6; Цис 0,01; Фен 2,6; Тир 4,9; Тре 0,8; Трп 0,1; Вал 5,2; Ала 7,2; Арг 1,5; Асп 21,3; Гис 12,3; Гли 9,8; Глу 2,5; Про 3,8; Сер 1,4; всего 91. Для усиления стимулирующей способности в составы жидких стимуляторов вводили, г/100 г концентрата: ФГ (или КГ) – 5; янтарную кислоту – 0,3; мочевины – 3; KNO_3 – 3; K_2HPO_4 – 3; MgSO_4 – 4; NH_4NO_3 – 6; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1; $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ – 0,1; MnSO_4 – 0,002; ZnSO_4 – 0,5; CuSO_4 – 0,5.

В составе Аминозола содержалось свободных аминокислот, %: Иле 1,1; Лей 0,2; Лиз 0,3; Мет 0,2; Цис 0,5; Фен 0,7; Тир 0,3; Тре 0,02; Трп 0,1; Вал 1,2; Ала 1,4; Арг 1,3; Асп 0,9; Гис 0,15; Гли 0,6; Глу 0,7; Про 0,6; Сер 0,4; всего 8,8.

Уровень влажности семян определяли гравиметрическим методом.

Ферментативную амилазную активность определяли стандартными методами.

На рисунке 1 представлены кинетические кривые набухания семян в растворах гидролизатов КГ и ФГ. Из данных рисунка видно, что процесс набухания семян в разбавленных растворах стимулятора и воде (контроль) протекает по классическому пути, описываемому кривой, имеющей характерный S-образный вид.

Семена растений являются живой биологической системой, на которую могут воздействовать внешние факторы, в данном случае поступление влаги с питательными и стимулирующими веществами, вызывая протекание основных физиологических процессов, связанных с ростом, развитием семени и его продуктивностью.

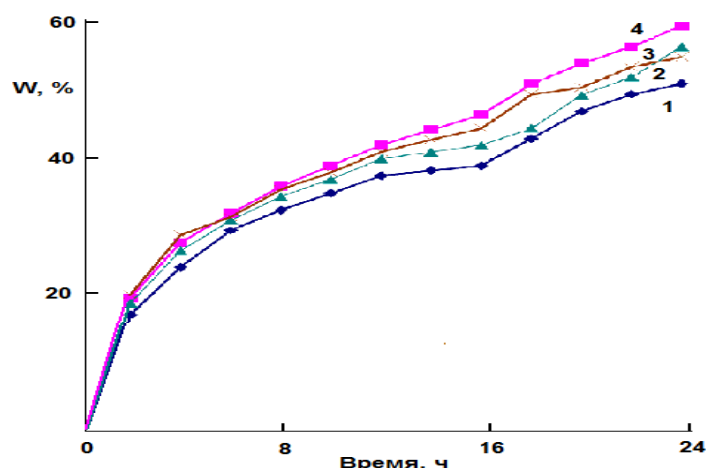


Рисунок 1. Степень набухания семян (W , % от исходной массы) при прорастании в среде стимулятора КФ: 1 – горчица в воде, 2 – горчица, опыт, 3 – фасоль, контроль, 4 – фасоль, опыт

Семена в состоянии покоя, в период начала прорастания проходят несколько основных этапов, в том числе активацию внутренних метаболических процессов, подготовку к началу роста растяжением семени и началом развития органов проростка. На первом этапе гидрофобные биочастицы по капиллярно-электролитным законам смачивания притягивают водные растворы питательных веществ, в том числе составных компонентов применяемых стимуляторов. При этом происходит процесс перехода в активное состояние ферментно-регуляторных систем биологического объекта и начинается интенсивное развитие внутренних гидролитических процессов распада запасных питательных веществ и их поступление к точкам роста. Скорость и степень набухания семян связаны с пробуждением зародыша и началом активной жизнедеятельности.

Наиболее интенсивное набухание отмечалось за первые 6–8 ч нахождения семян в среде стимуляторов. За это время они достигали уровня влажности в 38–42% и в опыте и контроле. Превышение в опытных образцах контрольных данных составляло до 5%.

Период в 10-12 часов выдержки можно отнести к началу второго этапа прорастания – подготовке к растяжению клеток. Здесь наблюдался некоторый лаг-период, в течение которого обычно считается, что скорость поглощения влаги и растворенного в ней кислорода обычно меняется мало. Рассматриваемый период в этом случае может рассматриваться как время, в течение которого первичный стимулятор, роль которого выполняют водные растворы использованных гидролизатов, вызывает метаболическую реакцию и активацию факторов прорастания.

Следующая за лаг-периодом фаза, по-видимому, может быть охарактеризована повторным увеличением темпов водопоступления с незначительным увеличением степени набухания. За 36-48 часов семена могут достигать уровня

критической влажности, обуславливающей максимальное растяжение оболочки, в результате чего кончик корешка выталкивается из семени.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что процессы поступления водных растворов примененных стимуляторов в семенах бобов и горчицы описываются кривой набухания, имеющей трехфазный характер, что соответствует современным представлениям о набухании семян. Использование регуляторов роста на основе гидролизатов животного происхождения не изменяет общей направленности процесса, но увеличивает скорость водопоступления, которая выражается в более раннем достижении пороговых уровней, необходимых для активизации метаболических процессов семени.

В семенах растительных культур основной запасной формой «жизненной» энергии являются углеводы, которые содержатся в клетках в виде крахмала и его производных. Его содержание в семенах может достигать 30-65 % от общей массы. Прорастание семян как естественный процесс, сопровождается внутренними биохимическими реакциями, в частности распадом крахмала и высвобождением энергии, необходимой для обеспечения роста растения. Реакция гидролиза крахмала происходит под воздействием ферментов – амилаз, которые находятся в семенах в свободном и связанном состоянии и могут активироваться при набухании. Интенсификация этого процесса коррелирует со скоростью и интенсивностью прорастания семян.

По классическим представлениям биохимии растений считается, что фермент α -амилаза начинает активно образовываться в процессе прорастания семян, а другая форма данного класса ферментов, расщепляющего крахмальные соединения – β -амилаза уже находится в сухих семенах в связанном макрокомплексном состоянии. Считается, что основная роль в гидролитическом распаде крахмала с образованием сахаридов принадлежит именно α -амилазе (1,4-глюкан-4-глюкогидролазе), расщепляющей активированные гранулы крахмала. Под действием β -амилаз (1,4-глюкан-мальтогидролаз) продуктами гидролиза становятся простые сахара [8].

Представляло интерес оценить уровни амилазной активности при обработке семян изучаемыми стимуляторами роста.

На рис. 2 представлены данные по изменению уровней амилазной активности живых систем в процессе прорастания семян фасоли под воздействием стимуляторов.

В ходе проведенных исследований наблюдали увеличение суммарной амилазной активности при обработке семян КГ, ФГ и Аминозолом в первые 72 ч наблюдений (рисунок 2). Максимум ферментативной активности был зарегистрирован на 3 сутки с превышением контроля на 10–15%. Увеличение амилазной активности в присутствии регуляторов роста, по-видимому, способствует интенсификации потенциальных возможностей семени, и, соответственно, способствует дальнейшему эффективному усвоению питательных веществ клетками и интенсивному развитию растения.

В таблице представлены интегральные значения эффекта влияния стимуляторов на скорость образования проросших семян горчицы, оцениваемого по доли проросших семян в зависимости от времени выдержки в питательной среде.

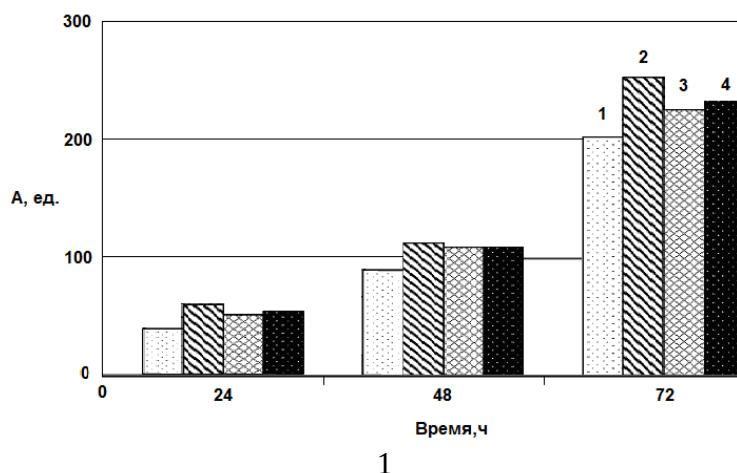


Рисунок 2. Суммарная амилазная активность в семенах при прорастании (А, ед. активности, мг гидролизованного крахмала за 1 ч на 1 г сухого вещества): – вода, контроль; 2 – КГ; 3 – ФГ; 4 – Аминозол

Таблица

Проращивание семян в присутствии стимуляторов роста, % от суммы

Время, сут	Применение стимулятора			
	Контроль (вода)	Стимулятор ФГ	Стимулятор КГ	Аминозол
1	20	30	50	5
2	20	45	65	16
3	50	55	88	35

Из данных таблицы видно, что выдержка и проращивание семян происходило более интенсивно в среде тех стимуляторов, в которых при прочих равных условиях содержалось больше свободных аминокислот. Так в стимуляторе КГ, содержащим в своей основе более 90% достаточно сбалансированной смеси свободных аминокислот, выдержка семян приводила к прорастанию с большей скоростью, по сравнению со стимулятором ФГ, в котором содержалось около 30% свободных аминокислот и Аминозолом, содержащим свободных аминокислот не более 10 %. Аминокислот больше всего содержалось в КГ стимуляторе и скорость образования ростков здесь была в несколько раз выше. Следует отметить, что в этом же стимуляторе содержится больше всего необходимого для развития растений свободного лизина.

Аминокислоты необходимы для нормального метаболизма растений, поскольку являются теми элементами, из которых образуются белки растительных клеток. Наряду с запасными белками, которые определяют качество урожая, более важную роль выполняют ферменты, вовлеченные в регулирование процессов, происходящих в клетке.

Растения способны синтезировать необходимые для них аминокислоты. Однако, в период интенсивного роста или в стрессовом состоянии, поступление аминокислот извне позволяет растению ускорить метаболические процессы без дополнительных затрат энергии на собственный синтез.

На рисунке 3 представлена визуальная картина проращивания семян горчицы. Видно, что в данном опыте в среде стимулятора КГ происходит интенсивное образование ростков, в то время как в водной среде проращивание не произошло вообще, а в зоне эксперимента имело место развитие процессов загнивания. Аналогичный консервирующий эффект от добавления стимулятора, содержащего кроме питательных веществ еще и некоторые компоненты, вызывающие ингибирование развития микрофлоры, наблюдался также в ряде других независимых опытов.

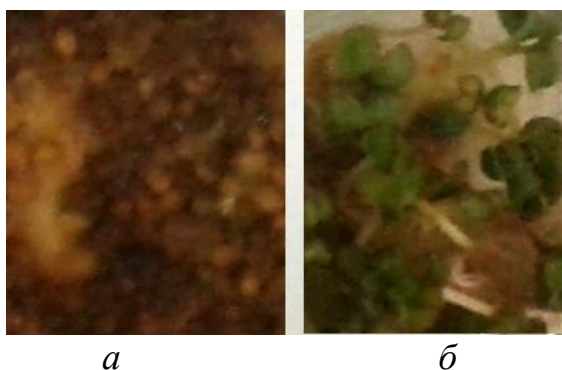


Рисунок 3. Эффект проращивания семян горчицы под воздействием КГ стимулятора, 3 сут, 25°C, влажность 90%: влияние воды (а); стимулятора (б)

Влияние стимуляторов прослеживается не только на ранних стадиях развития растений, но и на стадиях достаточно интенсивного образования отростков и корней, что очень хорошо видно на рис. 4. Развитие мощной корневой системы растения в присутствии стимуляторов, содержащих свободные аминокислоты и питательные компоненты, является залогом дальнейшего успешного развития растительной биомассы.



Рисунок 4. Развитие культуры фасоли, 25°C, влажность 85%, естественная освещенность через стекло 500 lux, выдержка в воде питьевой (а) и в среде биостимулятора (б) ФГ 4 сут и дополнительно в грунте 5 сут, контроль

Таким образом, проведенные испытания органических биостимуляторов на основе продуктов переработки животного сырья показали, что имеет место выраженное влияние на скорость проращивания семян растений и дальнейшее формирование зеленой биомассы.

Эффективность влияния стимуляторов, по-видимому, связана, в том числе, с наличием свободных аминокислот, которые содержались в стимуляторах в соотношениях, соответствующих количественному составу аминокислот в природных объектах, поскольку исходным сырьем для их получения служило белковое сырье животного происхождения. Это может рассматриваться как дополнительный стимулирующий фактор.

Литература

1. Numan M., Bashir S., Khan Y., Mumtaz R., Khan Z., Shinwari Z.K., Khan A.L., Khan A., Al-Harrasi A. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review // *Microbiological Research*. 2018. V. 209. № 4. P. 21-32.
2. Смирнов А.И., Орлов Ф.С., Васильев С.Б. Предпосевная обработка семян сосны обыкновенной и сосны Банкса низкочастотным электромагнитным полем и удобрением "Экстрасол" // *Вестник МГУЛ – Лесной вестник*. 2015. Т. 19. № 2. С. 65-68.
3. Иванкин А.Н., Васильев С.Б., Бабурина М.И., Вострикова Н.Л., Козырев И.В., Миттельштейн Т.М., Мишугина Т.В. О механизме биостимулирования и активации развития растительных культур // *Лесной вестник / Forestry Bulletin*. 2018. Т. 22. № 5. С. 5–13. DOI: 10.18698/2542-1468-2018-5-5-13.
4. Lima M.F., Eloy N.B., Siqueira J.A.B., Inzé D., Ferreira P.C.G. Molecular mechanisms of biomass increase in plants // *Biotechnology Research and Innovation*. 2017. V. 1. № 1. P. 14-25.
5. Федотов Г.Н., Федотова М.Ф., Шалаев В.С., Батырев Ю.П. К вопросу о стимуляции прорастания семян с неглубоким покоем // *Вестник МГУЛ – Лесной вестник*. 2016. № 1. С. 147-157.
6. Laila K.M., Elbordiny M.M. Response of wheat plants to potassium humate application // *Journal of Applied Sciences Research*. 2009. V.5. №9. P. 1202-1209.
7. Lodhi A., Tahir S., Iqbal Z., Mahmood A., Akhtar M., Qureshi T.M., Yaqub M. and Naeem A. Characterization of commercial humic acid samples and their impact on growth of fungi and plants // *Soil Environ*. 2013. V. 32. № 1. P. 63-70.
8. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н. Биологически активные соединения из природных объектов. Свойства и структурно-функциональное взаимосвязи. М.: Моск. гос. ун-т леса, 2003. 480 с.
9. Иванкин А.Н. Неклюдов А.Д., Вострикова Н.Л. Биологически активные соединения природного происхождения, Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2011. 480 с.

10. Иванкин А.Н. Переработка животного сырья в пищевые и технические продукты // Все о мясе. 2013. № 3. С. 36-38.
11. Baburina M.I. Vostrikova N.L., Ivankin A.N., Zenkin A.N. Biochemical conversion of natural lipids // Theory and practice of meat processing. 2018. V. 3. № 3. С. 12–26. DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-3-12-26.