

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский
институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова»
(ФГБНУ «ВНИИ агрохимии»)

Конфиденциально

УТВЕРЖДАЮ:
Директор
ФГБНУ «ВНИИ агрохимии»
С.И. Шкуркин
«25» _____ 2024 г.



ОТЧЁТ

о проведении скрининговых исследований препарата,
стимулятора роста растений Seedbooster, BP 0,07 % масс,
представленного ООО «Чистая энергия»,
на семенах яровой пшеницы.

Зав. лаб. физиологии минерального питания
и устойчивости растений

Осипова Л.В.

« 23 » _____ 2024 г.

Москва, 2024

ИСПОЛНИТЕЛИ:

Зав. лаб. физиологии минерального
питания



Л.В. Осипова

Научный сотрудник



И.А. Быковская

Введение

Глобальное изменение климата и его влияние на окружающую среду является важнейшей проблемой, связанной с продовольственной безопасностью страны. С 1990 годов правительства разных стран и ученые всего мира стали уделять большое внимание климатическим изменениям, устойчивому развитию экосистем, их функционированию и продуктивности. В современных климатических сценариях прогнозируется высокая вероятность негативных последствий для производства зерна.

Результаты многочисленных исследований подтверждают, что в настоящее время климатические условия существенно меняются. Резкое потепление сказалось на увеличении количества теплых зим и уменьшении осадков в отдельных областях РФ. Средняя температура приземного слоя воздуха за последние 25 лет возросла на 0,7°C. Увеличилось количество аномальных погодных ситуаций. Отклонения от благоприятных для жизни растений норм часто достигают опасных амплитуд. Многие факторы среды, к которым растения эволюционно не приспособлены, оказывают стрессовое воздействие на организм, приводящее к нарушению метаболических функций, повреждению структур, к снижению продуктивности и полному подавлению роста.

Для преодоления возможных последствий погодно-климатических изменений на территории России предлагается принятие программы адаптивного хозяйства (см. Третий оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации /под ред. В. М. Катцова; Росгидромет. – Санкт-Петербург: Научное издательство «Гидромет», 2022. – 676 с.).

Оптимизация минерального питания одно из направлений в повышении адаптации растений к стрессорам. Роль макро- и микроэлементов в формировании устойчивости изучается давно и многосторонне.

Однако поиск новых веществ и препаратов для снижения стрессовой нагрузки растий не прекращается и является очень актуальным.

Цель исследований.

Оценить действие исследуемого препарата на стрессоустойчивость по содержанию фотосинтетических пигментов, продуктов перекисного окисления липидов и морфометрическим параметрам озимой пшеницы.

Характеристика объекта исследований.

В опыте использовали *Озимую пшеницу сорта «Дарья»*.

Родословная: Г-18 (81.5.1.2 x Белорусская 80). Сорт мягкой яровой пшеницы.

Биологические особенности: Разновидность - лютеценс. Прямостоячий или полупрямостоячий куст. Выполненность соломы слабая. На верхнем междоузлии соломины восковой налёт сильный. Колос имеет пирамидальную форму, цвет белый, плотность средняя. Закруглённое плечо имеет среднюю ширину. Зубец слегка изогнутый. Само зерно имеет яйцевидную форму, с хохолком. Масса 1000 семян 35-40 грамм.

Урожайность в Центрально-Чернозёмном и Центральном районах составила 30-40 ц/га. Максимальная урожайность была получена в Липецкой области и составила 70 ц/га.

Период вегетации равен 85-100 дней, сорт относится к группе среднеспелых и устойчивых к полеганию.

В Госреестре России включён по Центральному и Центрально-Чернозёмному регионам. Рекомендуются для возделывания в Владимирской, Ивановской, Брянской, Тульской, Калужской, Курской, Орловской и Воронежской областях.

Характеристика исследуемого агрохимиката:

Препарат Seedbooster, ВР 0,07% масс – стимулятор роста растений. На основании технического задания для обработки семян использовали 0,014% раствор препарата Seedbooster, ВР, который был приготовлен согласно приему, указанному в техническом задании.

Материал и методика проведения опыта.

Для оценки исследуемого препарата проводили лабораторий опыт по следующей схеме:

Обработка семян	Вариант			
Контроль (без обработки)	1	2	3	4
Seedbooster, ВР (2 ч намачивание)	5	6	7	8
Seedbooster, ВР (обработка объемом ВР равным 5% от массы семян)	9	10	11	12

Все наблюдения, измерения, расчеты и примечания записывались в лабораторный журнал, к которому также приложены фотографии пророщенных семян и растений.

Опыты проводились в лаборатории физиологии минерального питания и устойчивости растений на базе ФГБНУ «ВНИИ агрохимии» в период с 03.03.2024 - 15.03.2024г.

Определяемые показатели:

- длина корешков;
- длина ростков;
- содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов) (Гавриленко и др., 1975);
- содержание малонового диальдегида (МДА), как показателя перекисного окисления липидов, при действии стрессов (Полесская и др., 2006).

Оборудование и материалы:

- стерилизатор воздушный ГП-40-СПУ
- чашки Петри;
- фильтровальная бумага «белая лента», Ø11см;
- увлажнители ложа (капельницы, пипетки);
- мерные колбы на 50 мл;
- химические стаканы;

- дозатор ThermoFisher 100-1000 мкл;
- вода дистиллированная;
- климатическая камера тепла и влажности модели «POL-EKO»;
- миллиметровая бумага;
- миллиметровые линейки;
- пинцеты;
- весы лабораторные технические.

Скрининговое исследование проведено в три этапа с охватом разных способов и времени обработки семян исследуемым агрохимикатом.

Семена растений проращивали в рулонной культуре (ГОСТ 12044-93) схема опыта (см. схему опыта). В опытах моделировали осмотический стресс, используя раствор сахарозы 3,8%. Фильтровальную бумагу стерилизовали при прокаливании, нарезали на полосы шириной 15 и 5 см. Семена растений в количестве 75 штук раскладывали на фильтровальную бумагу и покрывали полосой бумаги шириной 5 см. Каждую полосу сворачивали в рулон и помещали в стакан, содержащий 75 мл воды, и ставили в термостат с температурой 20-21°C. При достижении растениями возраста двух дней часть рулонов с проросшими семенами оставляли расти на воде – контрольный вариант (без стрессового воздействия), остальные переносят в стрессовые условия на пять суток. Затем семидневные проростки выдерживали на свету 45 минут и определяли фотосинтетические пигменты и малоновый диальдегид (МДА), как показатели активности метаболизма растений. А также определяли длину ростков и корней, сырую и сухую массу 10 растений.

Для определения содержания фотосинтетических пигментов в листьях растений отбирают растительные пробы (Третьяков Н.Н., 1990). Навески из листьев по 0,2 г, измельченные ножницами, помещают в фарфоровую ступку и растирают с 25 мл 100% ацетоном. Для количественного определения экстракт наливают в кювету (d=1см) спектрофотометра. Вторая кювета заполняется чистым растворителем. Кювету помещают в кюветную камеру

спектрофотометра (Helios Omega UV-VIS) и определяют оптическую плотность (D) при длинах волн, соответствующую максимум определяемых пигментов.

Содержание хлорофиллов *a* и *b* каротиноидов определяют по Хальму-Веттштейну (100% ацетон):

$$C_a = 9,784D_{662} - 0,9902,81D_{644};$$

$$C_b = 21,426D_{644} - 4,650D_{662};$$

$$C_{кар} = 4,695D_{440,5} - 0,268(C_a + C_b);$$

где C_a , C_b – концентрация хлорофиллов *a*, *b*, мг/л.

Затем вычисляли содержание пигментов в растительном материале, мг/г сырой массы:

$$A = \frac{V \cdot C}{P \cdot 1000},$$

где C – концентрация пигментов, мг/л; V – объем вытяжки, мл (25мл);
 P – навеска растительного материала, г.

Уровень свободно радикальных процессов оценивают по накоплению МДА, содержание которого определяют по реакции с тиобарбитуровой кислотой на спектрофотометре (Полесская и др., 2006).

Содержание МДА (мМ/г сырой массы) определяют по формуле:

$$\text{МДА} = \frac{(D_1 - D_2) \cdot U_2 \cdot U_3}{\varepsilon \cdot l \cdot P \cdot U_1 \cdot 10}, \text{ где}$$

U_1 – объем гомогената, взятый на определение, мл;

U_2 – конечный объем смеси, мл; U_3 – общий объем смеси, мл;

P – навеска, г; l – длина кюветы, см;

ε – коэффициент экстинкции $156 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;

10 – коэффициент перевода.

Стрессоустойчивость оценивали по сравнению с контролем (без стрессового воздействия).

Результаты и обсуждение

Для оценки влияния стрессоустойчивости полевых культур были проведены эксперименты по оценке роста растений на осмотически активном

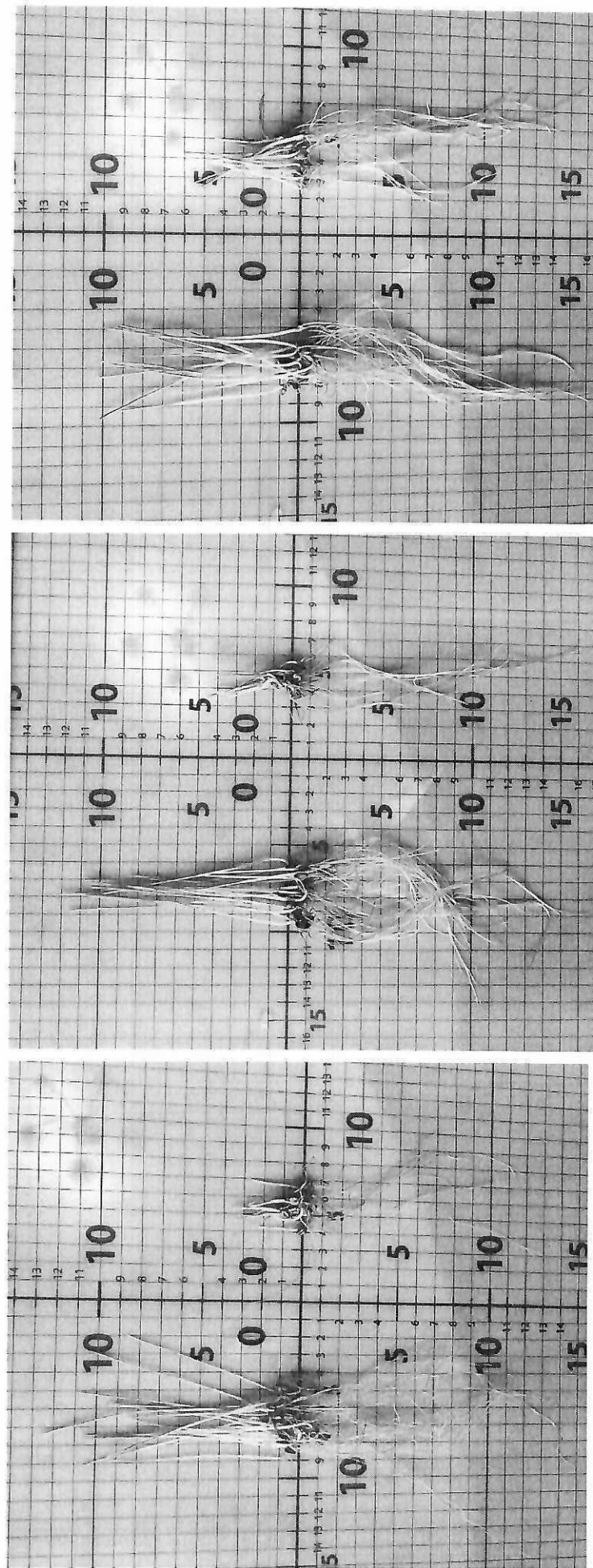
растворе сахарозы, имитирующем водный стресс. Устойчивость оценивали по линейным размерам проростков и степени их снижения к аналогичному показателю в контроле (табл. 1, рис. 1).

Анализируя полученные данные, проведенные в рулонной культуре необходимо отметить, что на седьмые сутки культивирования, длина ростков и корней в вариантах, обработанных препаратом, были больше, чем в аналогичном контроле (рис. 1).

Таблица 1. Влияние Seedbooster, ВР на размеры проростков пшеницы при действии осмотического стресса (3,8% сахарозы)

Морфологическая часть	Длина, см					
	Контроль (без обработки)		Seedbooster, ВР (2 ч намачивание)		Seedbooster, ВР (обработка объемом ВР равным 5% от массы семян)	
	стресс	% снижения от контроля	стресс	% снижения от контроля	стресс	% снижения от контроля
росток	2,78	-61,9	5,49	-49,7	4,63	-51,4
корень	7,47	-45,9	10,57	-22,1	12,95	-9,8

Стресс на первых этапах развития растений пшеницы затормозил рост первичных корешков и ростков (табл. 2). В большей степени запаздывала с развитием надземная часть проростка, так в контроле длина ростка была на 69,9% меньше, чем в оптимуме. Предпосевная обработка семян исследуемым



opt	стресс	opt	стресс
Контроль (без обработки)		Seedbooster, ВР (2 ч намачивание)	
		Seedbooster, ВР (обработка объемом ВР равным 5% от массы семян)	
		стресс	

Рис 1. Влияние Seedbooster, ВР на размеры проростков пшеницы в оптимальных условиях и при действии осмотического стресса (3,8% сахарозы) в зависимости от способа обработки

препаратом снижала стрессовое воздействие, так при двухчасовом намачивании Seedbooster, ВР, торможение роста ростков составило 49,7%, а при обработке объемом Seedbooster, ВР равным 5% от массы семян, составило 51,4%, что на 20,2% и 18,5% соответственно меньше, чем в необработанном контроле.

Рост корешков в необработанном контроле при действии стресса был заторможен на 45,9%. Применение Seedbooster, ВР снизило токсическое действие стресса – уменьшилась степень торможения роста корней с 45,9 до 22,1% и 9,8% соответственно способам обработки.

Для оценки влияния препарата на стрессоустойчивость озимой пшеницы, проведены лабораторные эксперименты, по определению активности образования фотосинтетических пигментов.

Таблица 2. Влияние Seedbooster, ВР на фотосинтетический аппарат при действии стресса, мг/г сырой массы

Вариант ПОС	повторность	Хлорофиллы				Каротиноиды
		<i>a</i>	<i>в</i>	$\sum a \text{ и } в$	<i>a/в</i>	
Контроль (без обработки)	1	0,1141	0,1800	0,2841	0,5785	2,34902
	2	0,1042	0,1778	0,2821	0,5861	2,32132
	3	0,1036	0,1813	0,2849	0,5714	2,34416
	сред	0,1040	0,1797	0,2837	0,5787	2,3382
Seedbooster, ВР (2 ч намачивание)	1	0,1293	0,2455	0,3749	0,5267	3,16892
	2	0,1317	0,2465	0,3782	0,5341	3,15408
	3	0,1301	0,2494	0,3795	0,5218	3,13032
	сред	0,1304	0,2471	0,3775	0,5275	3,15111
Seedbooster, ВР (обработка ВР объемом равным 5% от массы семян)	1	0,1566	0,3174	0,4741	0,4934	3,22162
	2	0,1608	0,3102	0,4710	0,5183	3,24109
	3	0,1569	0,311	0,4679	0,5046	3,26056
	сред	0,1581	0,3129	0,4710	0,5054	3,24109

Как показали проведенные исследования, ПОС препаратом на первых этапах развития повышала содержание хлорофилла *a*, ответственного за

поглощение квантов света и за превращение энергии светового потока в энергию химических связей. Увеличилось содержание хлорофилла *в* и каротиноидов, которые наряду со светосбором, участвуют в защите молодых растений от фотоингибирования. Более высокое содержания пигментов свидетельствует об усилении поглощения углекислоты, накоплении органического вещества и способствует активизации ростовых процессов и отражается на линейных размерах при ПОС Seedbooster, ВР (табл. 2).

Так, ПОС исследуемым препаратом увеличил содержание: хлорофилла *а* на 25,4% и 52%, хлорофилла *в* на 37% и 74%, каротиноидов на 34% и 38% по сравнению с необработанным контролем, соответственно способам обработки. Повышение содержания хлорофилла *в* и каротиноидов в условиях стресса является защитным механизмом фотосинтетического аппарата от повреждения, т.к. хлорофилл *в* и каротиноиды выполняют роль ловушек свободных радикалов.

Таблица 3. Влияние Seedbooster, ВР на интенсивность окислительных процессов в норме и при действии стресса ((МДА), мкМ/г сырой массы)

Вариант	Пшеница			
	росток		корень	
	opt	стресс	opt	стресс
Контроль (без обработки)	1,84	3,08	1,74	3,18
Seedbooster, ВР (2 ч намачивание)	0,81	1,20	1,24	2,44
Seedbooster, ВР (обработка объемом равным 5% от массы семян)	1,54	2,22	0,98	1,71

При действии стресса в проростках пшеницы содержание МДА повышалось, вызванное стрессом усиление генерации свободных радикалов, увеличило активность окислительных процессов в растении, интенсивность которых оценивали по содержанию конечных продуктов, дающих стойкое

окрашивание с тиобарбитуровой кислотой, основным из которых является малоновый диальдегид (МДА).

ПОС препаратом снижает содержание МДА в ростках и корнях проростков в оптимальных условиях выращивания при действии стресса.

Под влиянием ПОС Seedbooster, ВР интенсивность окислительных процессов снижалось: в ростках на 61% при двухчасовом намачивании препаратом и 28% при обработке водным раствором препарата, объемом равным 5% от массы семян, по сравнению с необработанным контролем; в корнях ПОС препаратом снижала токсическое действие стресса на 31,8% при двухчасовом намачивании препаратом и 47,8% при обработке водным раствором препарата, объемом равным 5% от массы семян.

Таким образом, предпосевная обработка семян Seedbooster, ВР снижала интенсивность окислительных процессов и оказала протекторное действие на ростовые функции при осмотическом стрессе, индуцированным раствором сахарозы, обеспечивая проросткам лучшие условия для роста и развития.

Выводы

Растения реагируют на экзогенное воздействие Seedbooster, ВР, изменением физиолого-биохимического статуса – возрастанием синтеза хлорофилловых пигментов и снижением интенсивности окислительных процессов в организме, что способствует оптимизации ростовой функции, обеспечивает более раннее начало фотосинтеза, который в свою очередь способствует лучшему укоренению, развитию первичной корневой системы, лучшему использованию почвенной влаги.

Исследуемый препарат Seedbooster, ВР рекомендуем в качестве препарата, повышающего стрессоустойчивость сельскохозяйственных культур.