

АБГРУНТАВАННЕ СКЛАДУ АМІНАКІСЛОТНЫХ СУМЕСЯЎ ДЛЯ ПРАРАСТАННЯ НАСЕННЯ РАСЛІН

Т.А. Талкачова, К.С. Чарняўская

Установа адукацыі “Віцебскі дзяржаўны ўніверсітэт імя П.М. Машэрава”

Актуальнай задачай сучаснай аграхіміі з’яўляецца стварэнне збалансаваных па складзе, колькасці і суадносінах складовых элементаў мікраўгнаенняў.

Мэта работы – на аснове амінакіслотнага складу фракцый гемалімфы распрацаваць склад штучных амінакіслотных сумесяў для стымуляцыі росту раслін і зніжэння акісляльнага стрэсу, выкліканага прарастаннем.

Матэрыял і метады. Метадам калонкавай хроматаграфіі на сепадэксе G-25 fine з гемалімфы кітайскага дубовага шайкапрада вылучаны фракцыі, якія змяшчаюць шэсць груп амінакіслот. Амінакіслоты фракцыі былі падзеленыя з вызначэннем іх колькаснага ўтрымання метадам высокаэфектыўнай вадкаснай хроматаграфіі з дапамогай хроматографа Agilent-1200. Насенне (*Hordeum vulgare* L.) гатунку “Гонар” апрацоўвалі разведзенымі ў 10 разоў фракцыямі гемалімфы і ацэньвалі даўжыню каранёў, а таксама колькасць ТБК-станоўчых рэчываў (паказчык акісляльнага стрэсу) і актыўнасць антыаксідантных ферментаў глутатыёнрэдуктазы і каталазы.

Вынікі і іх абмеркаванне. Апрацоўка насення ячменю фракцыямі гемалімфы прывяла да павелічэння даўжыні каранёў і да памяншэння праяў акісляльнага стрэсу прарастання. На аснове гэтых вынікаў былі сканструяваны 6 штучных амінакіслотных сумесяў, якімі было апрацавана насенне ячменю. Пры прарастанні апрацаванага такім чынам насення ячменю былі атрыманы вынікі, блізкія да тых, якія атрымаліся пры апрацоўцы фракцыямі гемалімфы.

Заклучэнне. Распрацаваныя і аправаваныя мадэльныя сумесі амінакіслот аказваюць стымулюючы эффект на рост і развіццё ячменю, што даказваецца павелічэннем даўжыні каранёў і наяўнасцю антыаксідантнага дзеяння, пра што сведчаць памяншэнне ўтрымання малонавага дыальдэгіду і зніжэнне актыўнасці каталазы. Найбольш аптымальнай з’яўляецца сумесь амінакіслот, якая змяшчае Глу (1%), Сер (10,2%), Глі (6,3%), Трэ (10,7%), Арг (5,9%), Ала (13,6%), Вал (11,1%), Іле (5,5%), Лей (4,2%), Ліз (19,2%), Пра (12,3%), з агульным утрыманнем амінакіслот 5,59 ммоль/л.

Ключавыя словы: гемалімфа, дубовы шайкапрад, амінакіслоты, прарастанне насення, ячмень.

SUBSTANTIATION OF THE COMPOSITION OF AMINO ACID MIXTURES FOR PLANT SEED GERMINATION

T.A. Tolkacheva, E.S. Chernyavskaya

Education Establishment “Vitebsk State P.M. Masherov University”

An urgent task of modern agrochemistry is to create composition, quantity and ratio of the constituent elements balanced micronutrient fertilizers.

The aim of the work is to develop the composition of artificial amino acid mixtures based on the amino acid composition of hemolymph fractions with the aim of stimulating plant growth and reducing oxidative stress caused by germination.

Material and methods. Using column chromatography on Sephadex G-25 fine, fractions containing six amino acid groups were isolated from hemolymph of oak silkworm. The amino acids of the fractions were separated with the determination of their quantitative content by high performance liquid chromatography using an Agilent-1200 chromatograph. Seeds (*Hordeum vulgare* L.) of the Gonar cultivar were treated with 10 times diluted hemolymph fractions and the root length, as well as the number of TBA-positive substances (an indicator of oxidative stress) and the activity of antioxidant enzymes glutathione reductase and catalase were evaluated.

Findings and their discussion. The treatment of barley seeds with hemolymph fractions led to an increase in root length and a decrease in the manifestations of oxidative stress of germination. Based on these results, 6 artificial amino acid mixtures with which barley seeds were processed were constructed. When germinating barley seeds treated in this way, results were obtained that are close to those obtained by treatment with hemolymph fractions.

Conclusion. The developed and tested model mixtures of amino acids have a stimulating effect on the growth and development of barley, as evidenced by an increase in the length of roots and the presence of an antioxidant effect, as evidenced by a decrease in the content of malondialdehyde and a decrease in catalase activity. The most optimal is a mixture of amino acids containing – Glu (1%), Ser (10,2%), Gli (6,3%), Tre (10,7%), Arg (5,9%), Ala (13,6%), Val (11,1%), Ile (5,5%), Lei (4,2%), Lys (19,2%), Pro (12,3%) and a total amino acid content of 5,59 mmol/l.

Key words: hemolymph, oak silkworm, amino acids, seed germination, barley.

Павышэнне прадуктыўнасці раслін дасягаецца з дапамогай разнастайных рэгулятараў росту раслін. Сярод іх значнае месца займаюць фітагармоны раслін і іх сінтэтычныя аналагі. Абсцызавая кіслата (тэрпеноід), з'яўляючыся антаганістам аўксину, цытакінінаў, гіберэліна, забяспечвае паспяванне зародка і перыяд спакою насення і інгібіруе іх прарастанне. Цытакініны (ізапентэніл, зеацын, 6-бензіламінапурын – гармоны 6-амінапурынавага шэрага і вытворныя фенілмачавіны) стымулююць дзяленне клетак і ўдзельнічаюць у мясцовай біясігналізацыі. Папярэднікамі біясінтэзу цытакінінаў у раслінах з'яўляюцца свабодныя АТФ і АДФ, а таксама тРНК. Гіберэліны (гармоны дытэрпенавай прыроды) кантралююць прарастанне насення і шэраг іншых функцый, дзейнічаючы ў адным напрамку з аўксинамі і з'яўляючыся антаганістамі цытакінінаў і абсцызавых кіслат. Вядомы гіберэлін – залежны транскрыпцыйны фактар GAMYB, які запускаяе экспрэсію генаў α -амілазы ў алейронавым пласце, што прыводзіць да распаду палімера крухмалу да глюкозы. Аўксіны-стымулятары росту раслін з'яўляюцца вытворнымі індолу. Часцей ужываецца гетэрааўксін-індаліл-3-воцатная кіслата, якая з'яўляецца вытворнай амінакіслата трыптафану. У раслінах аўксіны спрыяюць дзяленню клетак апікальнай мерыстэмы караня, якія запускаяюцца сігнальнымі шляхамі пасля звязвання з трансмембранным бялком AVR1 (шлях праз G-рэцэптары) або з бялком TIR1 (шлях праз убіквіцін-лігазны комплекс SCF). Гармон тэрпеноіднай прыроды фузікакцын рэгулюе многія функцыі раслін падобна аўксинам. Этылен (гармон – газ) забяспечвае кантроль развіцця праросткаў і шэраг іншых функцый, уключаючы рэакцыі стрэсавага характару. Сінтэзуецца з амінакіслата метэаніну пры высокіх узроўнях аўксинаў і цытакінінаў. Жасмонавая кіслата – вытворнае ліналенавай кіслата, узмацняе экспрэсію генаў, якія падвышаюць устойлівасць расліны да пашкоджальных фактараў. Блізкія эфекты аказвае саліцылавая кіслата, якая ўтвараецца ў працэсе ператварэнняў амінакіслата фенілаланіну. Цікава, што сінтэз жасмонавай і саліцылавай кіслот спалучаны з рэакцыямі ўтварэння актыўных метабалітаў кіслароду на фоне падаўлення актыўнасці каталазы [1–4].

Пры прарастанні насення вылучаюць пяць паслядоўных фаз: паглыннанне вады, набраканне, рост першасных карэньчыкаў, развіццё парастка, станаўленне праростка. У працэсе гэтых фаз адбываецца паслядоўная змена экспрэсіі генаў: пры дзеянні гіберэлінаў экспрэсіруюцца гідралітычныя ферменты, уключаючы нуклеазы, што вядзе да ўтварэння пурынавых асноў і сінтэзу цытакінінаў, а таксама пратэалітычных ферментаў, якія даюць трыптафан для сінтэзу аўксинаў. Цытакініны і аўксіны стымулююць дзяленне і расцяжэнне клетак. Затым адбываецца экспрэсія генаў ферментаў гетэратрофнага і аўтатрофнага абменаў [1]. У працэсе прарастання ўзмацняецца спажыванне кіслароду, што суправаджаецца актывацыяй свабодна-радыкальных працэсаў, калі разам з актыўнымі метабалітамі кіслароду (супераксідныя аніёны – радыкал, H_2O_2 , гідраксільны радыкал) утвараюцца монфааксід азоту (NO) і серавадарод (H_2S). Камбінаваныя эфекты сігнальных малекул (H_2O_2 , NO і H_2S) і фітагармоны ўключаюць сігнальныя шляхі SnRK2s, RACK1 і MAPK, што вядзе да прарастання насення. Рэгуляцыя экспрэсіі генаў DELLA, ARF, miR160 і DOG, актывацыя кальцый-залежнага сігналінга і рэдокс-сігнальнай экспрэсіі генаў маюць ключавую ролю ў гэтым працэсе [2]. На ўсіх этапах прарастання прасочваецца роля свабодных амінакіслот, якія выступаюць у якасці крыніц і складовых частак сігнальных малекул і біярэгулятараў [5; 6]. У апошнія дзесяцігоддзі ўзрастае цікавасць да вытворчасці мікраўгнаенняў, якія змяшчаюць фітагармоны і амінакіслоты [7]. Аднак да цяперашняга часу фарміраванне суадносін амінакіслот у мікраўгнаеннях фарміруецца на эмпірычнай аснове. Перспектыўна пры прарастанні насення прымяненне біялагічна актыўных злучэнняў, якія валодаюць ростастымулюючай і антыаксідантнай актыўнасцямі. Стварэнне падобных комплексаў і высвятленне іх біялагічных уласцівасцей дазваляць адкрыць новыя магчымасці іх прымянення [5]. Для вырашэння гэтага пытання мэтазгодна знайсці прыродны аб'ект, які мае эвалюцыйна адабраны механізм фарміравання клетак і тканак; з'яўляецца пры наяўнасці эндагеннай антыаксідантнай абароны. Расшыфроўка такога прыроднага механізму можа стаць матрыцай для стварэння прэпаратаў мэтанакіраванага ўздзеяння на ростастымулюючую і антыаксідантную сістэму іншых арганізмаў, у тым ліку і раслін. Такім аб'ектам можа стаць дубовы шаўкапрад (*Antheraea pernyi* G.-M.), які знаходзіцца ў фазе лялечкі працягла час.

Мэта – на аснове амінакіслотнага складу фракцый гемалімфы распрацаваць склад штучных амінакіслотных сумесяў для стымуляцыі росту раслін і зніжэння акісляльнага стрэсу, выкліканага прарастаннем.

Матэрыял і метады. Найлепшым аб'ектам па прастаце выканання, даступнасці і эканамічнай мэтазгоднасці для аналізу механізмаў развіцця і акісляльнага стрэсу ў эўкарыятычных клетках з'яўляюцца прарошчаныя зярнякі раслін, якія ў стане спакою маюць паніжаную вільготнасць (5–10%). Аптымальныя ўмовы для прарастання зярнявак – насычанасць іх вадой (45–50%) і наяўнасць атмасфернага кіслароду [8; 9]. Для атрымання гемалімфы лялечку дубовага шаўкапрада анестэзіравалі вытрымліваннем кокана на лёдзе. Скальпелем зразалі каўдалны канец (каля 5 мм) і збіралі гемалімфу ў стэрыльную прабірку эпендорф. Для падзелу гемалімфы лялечак дубовага шаўкапрада выкарыстоўвалі калонку дыяметрам 2,5 см і аб'ёмам 130 мл, запоўненую Sephadex G25 fine, ураўнаважаную 0,01 M NH_4HCO_3 . Выкарыстоўвалі для элюцыі 0,01 M NH_4HCO_3 . Збіралі фракцыі аб'ёмам 3 мл з хуткасцю 3 хвіліны/фракцыя. Аналіз элюатаў (прабірка 1–53) праводзілі шляхам спектрафотаметрыі пры 210, 260 і 280 нм. Колькасная і якасная ідэнтыфікацыя свабодных амінакіслот і іх дэрыватаў праводзілася звернута-фазнай хромаграфіяй 1) з перадкалонкавай дэрыватызацыяй амінакіслот, якія змяшчаюць першасную амінагрупу,

0,4% о-фталевага альдэгіду і 0,3% 3-меркаптапрапіёнавай кіслотой у 0,4 М Na-боратным буферы, рН 9,4 (дэрыватызуючы раствор змешвалі з пробай у суадносінах 6:1; 2) з наступнай дэрыватызацыяй амінакіслот з другасным атамам азоту (праліна і воксіпраліна) 9-флуарэнілметылкарбамайлхларыдам (FMOС), раствор якога ў ацэтанітрыле 7 мг/мл дадалі ў аб'ёме 1,5 зыходнага аб'ёму хлорнакіслага экстракту; 3) затым пробу нейтралізавалі ўвядзеннем 0,2 М раствору хлорнай кіслаты да нейтральнага або слабакіслага рН, пасля чаго неадкладна ўводзілі ў храматаграф. Уся працэдура дэрыватызацыі ажыццяўлялася аўтаматычна з дапамогай аўтасамплера Agilent 1200, які тэрмастаціравалі пры 5°C. Ідэнтыфікацыя і колькасная ацэнка атрыманых значэнняў выраблялася праграмай Agilent ChemStation ст.04.02 шляхам параўнання вынікаў аналізу доследных біялагічных аб'ектаў са стандартнай калібровачнай крывой штучнай сумесі амінакіслот. Апошняя ўтрымлівала роўныя колькасці вызначаных злучэнняў па 500 нмоль/мл кожнага і апрацоўвалася гэтак жа, як адпаведныя пробы. Выкарыстоўваўся канцэнтрат стандартнай сумесі фізіялагічных амінакіслот (кіслых, нейтральных і асноўных) фірмы "Aldrich" (ЗША), у якую дадаткова ўносілі кампаненты, якія ўяўляюць цікавасць і не змяшчаюцца ў дадзенай сумесі: цыстэінавая кіслата (CA), L-глутамін, L-аспарагін, O-фосфэтаналамін – у тых жа канцэнтрацыях. У якасці метаду-прататыпа выкарыстоўваўся метада аналізу свабодных амінакіслот, у якім ужывалася калонка Zorbax XDB C8, 3,5 мкм, 3×150 мм, хуткасць патоку 0,2 мл/хвіл, тэмпература калонкі 37°C. Рухомая фаза а: 0,1 М Na-ацэтанатны буфер, рН 6,85, які змяшчае 20 мг/л ЭДТА; рухомая фаза А: ацэтанітрыл/вада 7/3 (аб./аб.). Падзел праводзілі з градыентным элюіраваннем ад 5 да 100% за 78 хвіл; тэмпература калонкі 37°C. У апісанай сістэме паслядоўна элюіраваліся і вызначаліся наступныя злучэнні: цыстэінавая кіслата (CA), аспарагінавая кіслата (Asp), глутамінавая кіслата (Glu), аспарагін (Asn), серын (Ser), α-амінаадыпінавая кіслата (α-AAA), глутамін (Gln), гістыдзін (His), гліцын (Gly), 3-метылгістыдзін (3MHis), фосфэтаналамін (PEA), трэанін (Thr), 1-метылгістыдзін (1MHis), цытрулін (Citr), аргінін (Arg), β-аланін (β-Ala), аланін (Ala), таўрын (Tau), β-амінаізамаасляная кіслата (β-ABA), γ-амінамаасляная кіслата (GABA), тыразін (Tyr), α-амінамаасляная кіслата (α-ABA), этаноламін (EA), амінавалер'янавая кіслата (Ava), валін (Val), метыянін (Met), цыстацыянін (Ctn), цысцін (Cys), трыптафан (Trp), фенілаланін (Phe), ізалейцын (Ile), лейцын (Leu), OH-пралін (H-Pro), арніцын (Orn), лізін (Lys), пралін (Pro). Дэтэктаванне ажыццяўлялі па флуарэсцэнцыі (231/445 нм для першасных амінакіслот і 265/313 нм – для праліна і оксіпраліна) [10].

Для атрымання этыяліраваных праросткаў зярняўкі ячменю (*Hordeum vulgare* L.) гатунку "Гонар" старанна прамывалі дыстыляванай вадой і пакідалі на 24 гадзіны для набракання ў доследных растворах і дыстыляванай вадзе (кантроль). Затым насенне раскладвалі на фільтравальнай паперы, згортвалі ў рулоны, якія змяшчалі ў шклянкі з дыстыляванай вадой і прарошчвалі ў тэрмастаце пры 23°C. Для біяхімічнага аналізу выкарыстоўвалі праросткі ва ўзросце сямі сутак, лічылі ад закладкі насення на прарошчванне. Да гэтага моманту расліны ячменю знаходзіліся ў фазе цалкам разгорнутага першага ліста, пачатку з'яўлення другога.

Колькаснае вызначэнне прадуктаў перакіснага акіслення ліпідаў праводзілі ў лісці з выкарыстаннем 2-тыабарбітуравай кіслаты. Канцэнтрацыю ТБК-пазітывных рэчываў (ТБКРС) разлічвалі з выкарыстаннем малярнага каэфіцыента экстынкцыі $1,56 \cdot 10^5$ моль⁻¹•см⁻¹ і паказвалі ў мкмоль/г. Актыўнасць каталазы вызначалі па метадзе Каралюка, заснаваным на вызначэнні колькасці H₂O₂, не раскладзенага пасля інкубацыі з каталазай шляхам спектрафотаметрычнай рэгістрацыі афарбаванага прадукту рэакцыі ўзаемадзеяння пераксіду вадароду з малібдатам амонію. Актыўнасць каталазы разлічвалі з улікам каэфіцыента малярнай экстынкцыі – 22200 см⁻¹•М⁻¹ і паказвалі ў мкмоль/хвіл•г тканіны. Прынцып вызначэння актыўнасці глутатыёнрэдуктазы заключаецца ў ператварэнні GSSG у GSH у прысутнасці НАДФН. Актыўнасць глутатыёнрэдуктазы разлічвалі з улікам каэфіцыента малярнай экстынкцыі $6,22$ мМ⁻¹•см⁻¹ і паказвалі ў мкмоль/хвіл•г тканіны [11; 12].

Атрыманы лічбавы матэрыял уводзілі ў электронныя табліцы і апрацоўвалі метадамі параметрычнай статыстыкі з улікам дакладных адрозненняў пры P<0,05.

Вынікі і іх абмеркаванне. Гель-фільтраванне гемалімфы дало ў суме 736 ммоль/л, або 81 г/л свабодных амінакіслот. Асноўная маса амінакіслот у выніку гель-храматаграфіі выходзіла ў дыяпазоне фракцый 15–30 і элюацыйнага аб'ёму 64,6–114 мл. Усе свабодныя амінакіслоты, выдзеленыя метадам гель-фільтрацыі па канцэнтрацыі, былі падзелены на 6 груп. У першую групу ўвайшлі амінакіслоты, якія выдзяляюцца ў высокай канцэнтрацыі (500–2500 мкмоль/л фракцыі) з элюацыйным аб'ёмам 60–95 мл. У гэтай групе апынуліся асноўныя (станоўча зараджаныя амінакіслоты – гістыдзін, лізін і аргінін), а таксама серын, гліцын і цыстацыянін. У другую групу ўвайшлі 5 амінакіслот, якія вылучаліся ў дыяпазоне канцэнтрацый 100–900 мкмоль/л з элюацыйным аб'ёмам 70–85 мл: трэанін, аланін, валін, ізалейцын і пралін. У трэцюю групу былі вылучаны амінакіслоты, якія выдзяляюцца пры гель-храматаграфіі ў дыяпазоне канцэнтрацый 50–350 мкмоль/л з высокім утрыманнем лейцыну. Чацвёртую групу склалі тры амінакіслоты, якія змяшчаюцца ў дыяпазоне канцэнтрацый 20–140 мкмоль/л і якія выходзілі ў дыяпазоне элюацыйнага аб'ёму 60–100 мл: фосфэтаналамін, метыянін, фенілаланін. Пятую групу склалі 5 амінакіслот і азотазмяшчальных метабалітаў, што выдзяляюцца ў канцэнтрацыі 5–35 мкмоль/л з элюацыйным аб'ёмам 70–85 мл. Апошняю, шостую групу склалі 6 нізкамалекулярных рэчываў, якія змяшчаюць азот, што выдзяляюцца ў дыяпазоне канцэнтрацый 5–35 мкмоль/л, але якія валодаюць асаблівасцямі і падзеленыя метадам высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі: трыптафан выходзіў у вялікім элюацыйным аб'ёме, а таўрын,

аспарагінавая кіслата, тыразін былі прадстаўлены некалькімі пікамі. У шостаі групе амінакіслот вызначаны трыптафан – папярэднік аўксінаў і таўрын, які валодае антыаксідантным дзеяннем. Атрыманая вынікі паказваюць, што з лялечак дубовага шаўкапрада метадам гелі-фільтрацыі магчыма атрымаць поўны набор пратэінагенных амінакіслот.

На наступным этапе ацэньвалі ўплыў 15–30 фракцый гемалімфы, якія змяшчаюць розныя наборы амінакіслот, на даўжыню каранёў *Hordeum vulgare*, змест ТБКРС-рэактыўных злучэнняў (паказчык акісляльнага стрэсу) і актыўнасць антыаксідантных ферментаў (глутатыёнрэдуктаза і каталаза) (табл. 1).

Табліца 1

Уплыў гемалімфы фракцый на даўжыню каранёў, утрыманне ТБКРС, актыўнасць глутатыёнрэдуктазы і каталазы ў лісці *Hordeum vulgare*

№ фракцыі	Даўжыня каранёў, мм	ТБКРС, мкмоль/хвіл-г	ГР, мкмоль/хвіл-г	Каталаза, мкмоль/хвіл-г
Кантроль (H ₂ O)	119,5±2,76	2,5±0,14	6,1±0,12	9,7±0,40
15	139,4±2,83 ¹	1,7±0,16 ¹	5,3±0,21 ¹	17,2±1,60 ¹
16	147,4±3,44 ¹	2,0±0,14 ¹	5,4±0,48	6,9±0,42 ¹
17	149,7±2,75 ¹	2,0±0,11 ¹	4,2±0,38 ¹	9,8±2,13
18	131,7±2,66 ¹	3,0±0,21	4,2±13 ¹	4,7±1,55 ¹
19	132,5±2,01 ¹	2,0±0,16 ¹	4,0±0,12 ¹	14,1±4,23
20	135,4±1,52 ¹	2,8±0,24	4,5±0,33 ¹	6,7±0,69 ¹
21	145,2±2,28 ¹	1,7±0,16 ¹	4,8±0,10 ¹	10,5±1,51
22	149,0±2,86 ¹	2,0±0,14 ¹	5,9±0,44	7,89±2,74
23	139,2±1,67 ¹	1,7±0,09 ¹	4,5±0,31 ¹	10,8±0,73
24	131,4±1,87 ¹	2,6±0,16	4,9±0,33 ¹	4,3±0,63 ¹
25	143,0±2,71 ¹	1,8±0,14 ¹	5,3±0,35	8,3±1,70
26	131,1±2,05 ¹	2,1±0,16 ¹	5,9±0,42	6,7±0,41 ¹
27	136,5±2,08 ¹	2,1±0,15 ¹	6,2±0,20	7,3±2,29
28	129,4±1,83 ¹	2,2±0,20	4,7±0,20 ¹	3,0±0,53 ¹
29	125,3±2,66 ¹	2,3±0,21	6,5±0,13 ¹	12,2±1,04
30	126,6±1,47 ¹	2,3±0,08	6,0±0,26	5,4±1,90

Заўвага: ¹ P < 0,05 у параўнанні з кантролем.

Як відаць з табл. 1, пры апрацоўцы збожжа фракцыямі гемалімфы ў развядзенні 1:10 у цэлым адзначаецца пэўнае павелічэнне даўжыні каранёў. Найбольш выяўленае павелічэнне даўжыні каранёў было пры апрацоўцы фракцыямі 16 – на 23,3% у параўнанні з кантрольнай групай, 17 – на 25,3%, 22 – на 24,7%. Самы нізкі паказчык пры апрацоўцы змесцівам фракцыі 29 – павелічэнне на 4,9%. Ужыванне фракцый гемалімфы для перадапаяўной апрацоўкі ячменю спрыяла статыстычна значнаму памяншэнню ўтрымання ТБКРС (фракцыі 15 – на 32%, 19 – на 20%, 21 і 23 – на 32%, 25 – на 28%), зніжэнню актыўнасці глутатыёнрэдуктазы (максімальнае зніжэнне актыўнасці назіраецца пры апрацоўцы фракцыяй 19 – на 34,4%, 17, 18 – на 31,1%, 20, 23 – на 26,2% у параўнанні з кантрольнай групай). Зніжэнне актыўнасці каталазы выяўлена пры апрацоўцы ячменю фракцыяй 15 – на 77,3%, фракцыямі 16 – на 28,9%, 20, 26 – на 30,9%, 30 – на 44,3% у параўнанні з кантрольнай групай.

Такім чынам, паказана, што ўсе даследаваныя фракцыі гемалімфы стымулююць рост каранёў пры прарастанні ячменю. Аднаразовая апрацоўка зярнявак фракцыямі гемалімфы лялечак дубовага шаўкапрада 15, 19, 20, 21, 23, 25 прыводзіць да зніжэння ўтрымання ТБКРС і актыўнасці ГР у лісці.

Нягледзячы на станоўчы эфект, атрыманне фракцый гемалімфы лялечак дубовага шаўкапрада эканамічна невыгадна, але дазваляе адабраць біялагічна абгрунтаваныя суадносіны амінакіслот для аптымізацыі прарастання насення. Былі створаны мадэльныя сумесі амінакіслот і вывучаны іх уплыў на прарастанне насення *Hordeum vulgare*. У склад мадэльнай сумесі № 1 увайшлі аргінін і лізін (у суадносінах 1:1,4); № 2 – глутамінавая кіслата, серын, гліцын, трэанін, аргінін, аланін, валін, фенілананін, лейцын, лізін, пралін (3:2,5:1:6,5:96:2,5:9:3,5:1,5:136:7); № 3 – глутамінавая кіслата, трэанін, аргінін, лізін, пралін (4:1:80:54:2); № 4 – глутамінавая кіслата, серын, гліцын, трэанін, аргінін, аланін, валін, ізалейцын, лейцын, лізін, пралін (1:7,5:3,3:8,9:7,3:8,5:9,1:50,4:3,9:19,5:9,9); № 5 – глутамінавая кіслата, серын, гістыдзін, гліцын, трэанін, аргінін, аланін, тыразін, валін, метыянін, ізалейцын, лейцын, лізін, пралін (2,0:6,7:1:3,8:4,3:1,5:3,4:2,5:2,8:20,0:1,3:1,3:2,5); № 6 глутамінавая кіслата, серын, гістыдзін, гліцын, трэанін, аргінін, аланін, тыразін, валін, метыянін, ізалейцын, лейцын, лізін, пралін (8,5:61,5:78,5:41,5:25:32,5:14,5:1:9,5:49,5:93:16:3:8) – табл. 2.

Штучныя сумесі амінакіслот, утвораныя па амінакіслотным складзе фракцый гемалімфы лялечак

Фракцыя	АК, мкмоль	Сумесь АК	АК, мкмоль	Утрыманне амінакіслот, %															
				глу	сер	гіс	глі	трэ	арг	ала	тыр	вал	мет	іле	фен	лей	ліз	пра	
17	3992	1	2953							37								63	
		2	3582	1	1		0,8	3	31	1,6			4,3			1,2	0,6	52	3,5
18	1034	3	885	3				1,4	51,6									41,6	2,4
19	6606	4	5590	1	10,2		6,3	10,7	5,9	13,6			11,1		5,5		4,2	19,2	12,3
20	9119	5	7185	4,6	20,9	2,2	17	11,9	2,9	12,6			7,1	0,6	5,1		4,8	3,1	7,2
21	6049	6	5325	2,2	2,2	19	20,8	7,8	7	6	0,2		3	1,2	2,7		4,6	0,8	2,7

У табл. 3 прадстаўлены звесткі пра ўплыў штучных амінакіслотных сумесяў на даўжыню каранёў, утрыманне ТБК-рэактыўных злучэнняў, актыўнасць глутатыёнрэдуктазы і каталазы ў лісці *Hordeum vulgare*.

Таблиця 3

Уплыў сумесяў амінакіслот на даўжыню каранёў, утрыманне ТБКРС, актыўнасць глутатыёнрэдуктазы ў лісці *Hordeum vulgare*

№ фракцыі	Даўжыня каранёў, мм	ТБКРС, мкмоль/хвіл-г	ГР, мкмоль/хвіл-г	Каталаза, мкмоль/хвіл-г
Кантроль (H ₂ O)	119,5±1,94	2,5±0,14	6,1±0,12	9,9±0,49
1	129,2±2,03 ¹	1,6±0,03 ¹	6,9±0,27	3,6±0,68 ¹
2	132,8±1,92 ¹	1,6±0,15 ¹	6,7±0,23	6,0±0,55 ¹
3	134,5±1,62 ¹	1,7±0,04 ¹	6,0±0,19	6,1±0,82 ¹
4	138,2±1,35 ¹	1,6±0,13 ¹	7,1±0,25	7,2±0,26 ¹
5	134,6±1,94 ¹	1,5±0,06 ¹	6,6±0,19	6,5±0,31 ¹
6	131,6±1,76 ¹	1,8±0,10 ¹	6,5±0,20	4,8±0,38 ¹

Заўвага: гл. таблицу 2.

Згодна са звесткамі табл. 3, апрацоўка зярнявак ячменю фракцыямі гемалімфы 17 і 21 забяспечыла найбольшы прырост каранёў (на 25,3% і 21,5%, адпаведна). Па амінакіслотным складзе фракцыі 17 былі прыгатаваны 2 штучныя сумесі амінакіслот: першая ўтрымоўвала аргінін і лізін (адноснае ўтрыманне 37% і 63%, адпаведна); другая – аргініну 31%, лізіну 52%, а астатнія 17% уключалі глу, сер, глі, трэ, ала, вал, фен, лей, пра.

Было выяўлена, што абедзве сумесі амінакіслот забяспечылі прыкладна аднолькавы прырост каранёў на 8,1% і 11,1%, адпаведна. Паколькі адрозненні ў даўжыні каранёў першай і другой груп атрымаліся статыстычна недакладнымі, было зроблена заключэнне, што асноўны ўклад у стымулюючае дзеянне сумесяў 1 і 2 на рост каранёў уносілі аргінін і лізін. Апрацоўка зярнявак ячменю фракцыяй гемалімфы 21 прывяла да павелічэння прыросту каранёў на 21,5%. Аднак змяшчэнне аргініну і лізіну склала ўсяго толькі 7% і 0,8%, адпаведна. У адрозненне ад папярэдніх фракцый у фракцыі 21 змяшчалася павышаная колькасць гістыдзіну і гліцыну. У штучнай амінакіслотнай сумесі 6, складзенай па амінакіслотным складзе фракцыі 21, на долю гістыдзіну і гліцыну прыходзілася 19,0% і 20,8%, адпаведна. Гліцын не мае важнай ролі ў стымуляцыі росту каранёў, паколькі ў сумесях 5 і 6, якія забяспечваюць аднолькавы прырост, адноснае ўтрыманне гліцыну аднолькавае, але доля гістыдзіну ў сумесі 6 у 8,5 разы большая, чым у сумесі 5. Таму стымулюючы праростанне зярнявак ячменю эфект фракцыі 21 гемалімфы найбольш верагодна звязаны з павышаным утрыманнем гістыдзіна.

Заключэнне. Распрацаваныя і апрабаваныя мадэльныя сумесі амінакіслот аказваюць стымулюючы эфект на рост і развіццё ячменю, што даказваецца павелічэннем даўжыні карэньчыкаў і наяўнасцю антыаксідантнага дзеяння, пра гэта сведчаць памяншэнне ўтрымання малонавага дыальдэгіду і зніжэнне актыўнасці каталазы. Найбольш аптымальнай з'яўляецца сумесь амінакіслот № 4, якая змяшчае глу (1%), сер (10,2%), глі (6,3%), трэ (10,7%), арг (5,9%), ала (13,6%), вал (11,1%), іле (5,5%), лей (4,2%), ліз (19,2%), пра (12,3%), з агульным утрыманнем амінакіслот 5,59 ммоль/л.

ЛІТАРАТУРА

1. Seeds. Physiology of development, germination and dormancy, 3rd Edition / J.D. Bewley, K.J. Bradford, H.W.M. Hillhorst, H. Nonogaki. – New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer-Verlag, 2013. – 392 p.

2. Wojtyła, L. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination / L. Wojtyła [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2016. – Vol. 7. – P. 66.
3. Fait, A. Arabidopsis seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches / A. Fait [et al.] // *Plant Physiology*. – 2006. – Vol. 142. – P. 839–854.
4. Sebastian, J. Methods to promote germination of dormant setaria viridis seeds / J. Sebastian [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 4. – e95109.
5. Mandal, S. Phenolic acids acts as signaling molecules in plant-microbe symbiose / S. Mandal, D. Chakraborty, S. Dey // *Plant Signaling and Behavior*. – 2010. – Vol. 5, № 4. – P. 359–368.
6. Alhadi, F.A. The effects of free amino acids profiles on seeds germination/dormancy and seedlings development of two genetically different cultivars of Yemeni pomegranates / F.A. Alhadi [et al.] // *J. Stress Physiol. Biochem.* – 2012. – Vol. 8, № 1. – P. 114–137.
7. Амінакіслоты ва ўгнаеннях [Электронны рэсурс] // Партал аграбізнесу. – Рэжым доступу: <https://agrostory.com/info-centre/agronomists/aminokisloty-v-udobreniyakh>. – Дата доступу: 15.01.2020.
8. Кавалёва, В.М. Экафізіялагічны ўплыў на ўтрыманне нізкамолекулярных антыаксідантаў у сухім насенні яравага ячменю / В.М. Кавалёва // *Навуковы часопіс КубДАУ*. – 2011. – № 70(06). – С. 1–9.
9. Обручава, Н.В. Фізіялогія ініцыяцыі прарастання насення / Н.В. Обручава, В.В. Анціпіна // *Фізіял. расл.* – 1997. – Т. 44, № 2. – С. 287–302.
10. Чыркін, А.А. Біялагічная актыўнасць прадуктаў гістолізу / А.А. Чыркін, А.І. Каваленка, Т.А. Талкачова. – Germany: Lambert Academic Publishing, 2012. – 156 с.
11. Талкачова, Т.А. Абаронныя рэакцыі раслінных аб'ектаў пры стрэсе і метады іх ацэнкі / Т.А. Талкачова, І.М. Марозова, Г.У. Ляхновіч // *Сучасныя праблемы біяхіміі. Метады даследаванняў: вучэб. дапаможнік / пад рэд. праф. А.А. Чыркіна*. – Мінск: Выш. шк., 2013. – С. 438–469.
12. Чыркін, А.А. Рэакцыі ізаляваных клетак на дзеянне гідрафільных кампанентаў лялечак дубовага шаўкапрада / А.А. Чыркін [і інш.] // *Вуч. запіскі УА "ВДУ імя П.М. Машэрава"*. – 2009. – Т. 8. – С. 278–298.

REFERENCES

1. *Seeds. Physiology of development, germination and dormancy*, 3rd Edition / J.D. Bewley, K.J. Bradford, H.W.M. Hilhorst, H. Nonogaki. – New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer-Verlag, 2013. – 392 p.
2. Wojtyła, L. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination / L. Wojtyła [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2016. – Vol. 7. – P. 66.
3. Fait, A. Arabidopsis seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches / A. Fait [et al.] // *Plant Physiology*. – 2006. – Vol. 142. – P. 839–854.
4. Sebastian, J. Methods to promote germination of dormant setaria viridis seeds / J. Sebastian [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 4. – e95109.
5. Mandal, S. Phenolic acids acts as signaling molecules in plant-microbe symbiose / S. Mandal, D. Chakraborty, S. Dey // *Plant Signaling and Behavior*. – 2010. – Vol. 5, № 4. – P. 359–368.
6. Alhadi, F.A. The effects of free amino acids profiles on seeds germination/dormancy and seedlings development of two genetically different cultivars of Yemeni pomegranates / F.A. Alhadi [et al.] // *J. Stress Physiol. Biochem.* – 2012. – Vol. 8, № 1. – P. 114–137.
7. Amino acids in fertilizers [Electronic resource] // *Agribusiness portal*. – Mode of access: <https://agrostory.com/info-centre/agronomists/aminokisloty-v-udobreniyakh>. – Date of access: 15.01.2020.
8. Kovaljeva, O.N. Ecophysiological influence on ascorbic acid and glutathion content in spring barley seed / O.N. Kovaljeva // *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*. – 2011. – № 70(06). – P. 1–9.
9. Obrucheve, N.V. Physiology of seed germination initiation / N.V. Obrucheve, O.V. Antipina // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 1997. – Vol. 44, № 2. – P. 287–302.
10. Chirkin, A.A. Biological activity of histolysis products / A.A. Chirkin, E.I. Kovalenko, T.A. Tolkacheva. – Germany: Lambert Academic Publishing, 2012. – 156 p.
11. Tolkacheva, T.A. Protective reactions of plant objects under stress and methods for their assessment / T.A. Tolkacheva, I.M. Morozova, G.U. Lyahnovich // *Modern problems of biochemistry. Research methods*. – Minsk: Vyshejschaya shkola, 2013. – 438–469 p.
12. Chirkin, A.A. Reactions of isolated cells to the action of hydrophilic components of oak silkworm pupae / A.A. Chirkin [et al.] // *Uchenye zapiski VGU*. – 2009. – Vol. 8. – P. 278–298.

Паступіў у рэдакцыю 16.03.2020

Адрас для карэспандэнцыі: e-mail: tanyatolkacheva@mail.ru – Талкачова Т.А.