

КАЦАН В. А.^{1✉}, ПОТОПАЛЬСЬКИЙ А. І.^{1,2}, ЗАДОРЖНИЙ Б. О.^{1,2}¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150, e-mail: val.katsan@gmail.com² Інститут оздоровлення і відродження народів України,
Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150, e-mail: labmsbar@gmail.com

✉ val.katsan@gmail.com, (067) 975-17-01

ВПЛИВ КОНЦЕНТРАЦІЇ СКЛАДНИКІВ ІЗАТІЗОНУ, ДМСО ТА ПЕГ400, НА РІСТ ТА ЗЕРНОВУ ПРОДУКТИВНІСТЬ ВІВСА СОРТУ НЕЗЛАМНИЙ УПРОДОВЖ ДВОХ ПОКОЛІНЬ ПІСЛЯ ОБРОБКИ НАСІННЯ

Мета. Дослідити вплив розчинників ДМСО та ПЕГ400, які є складниками препарату Ізатізон, на ріст та зернову продуктивність вівса сорту Незламний упродовж 2-х поколінь після передпосівної обробки насіння з метою з'ясування механізму стимулювання Ізатізоном ростових процесів та продуктивності вівса, виявленого раніше. **Методи.** Використано широкий діапазон концентрації композиції розчинників за їх співвідношення, характерного такому в складі препарату. Рослини вирощували у відкритому ґрунті. Ростові процеси оцінювали на стадії виходу в трубку за висотою стебла рослини. Зернову продуктивність характеризували за довжиною волоті, кількістю зерен у ній та їх вагою. **Результати.** У 1-му поколінні вівса виявлено залежність впливу композиції розчинників на ріст стебла від її концентрації, в деяких варіантах виявлено негативний вплив на кількість зерен у волоті та їх вагу. У 2-му поколінні спостерігали стимуляцію ростових процесів, незалежно від концентрації розчинників, та більш виражений негативний вплив на зернову продуктивність. **Висновки.** Розчинники ДМСО та ПЕГ400 здатні впливати на ростові процеси вівса та його продуктивність, і такий вплив виявляється також у 2-му поколінні рослин після передпосівної обробки насіння.

Ключові слова: Ізатізон, ДМСО, ПЕГ400, ріст та зернова продуктивність вівса.

Попередніми дослідженнями, які проводилися в нашій лабораторії, була виявлена здатність Ізатізону сприяти підвищенню зернової продуктивності злаків за обробки їх насіння суспензіями препарату перед висіванням у ґрунт [1, 2]. Більше того, на вівсі нами було виявлено збереження такого стимулюючого ефекту в наступних поколіннях, що може бути свідченням епігенетичних перебудов у генетичних

системах, які контролюють кількісні ознаки, до яких належать досліджувані нами параметри росту та продуктивності рослин [1, 2].

Заслуговує на увагу те, що всі складники Ізатізону є біологічно активними сполуками [3–7]. Так, діюче начало препарату – метисазон [8] – є похідним ізатину універсального месенджера стресового сигналіну [9] та відомого стимулятора росту рослин. Розчинники ДМСО та ПЕГ400, що є складниками Ізатізону, здатні слугувати тригерами стресових сигнальних шляхів, які в рослинах контролюються гомеобоксними генами *hd-zip* родини [10, 11]. Фактори транскрипції HD-ZIP родини, які кодуються цими генами, є унікальними для рослин, вони забезпечують адаптивні відповіді, інтегруючи процеси росту й розвитку, сигнали про стан довкілля та стан сітки клітинних сигналів, яка контролюється фітогормонами [10, 11], що є дуже важливим для виявлення кількісних ознак.

Мета дослідження – виявлення можливого механізму впливу складників препарату Ізатізон, розчинників ДМСО та ПЕГ400 на ріст та зернову продуктивність вівса сорту Незламний упродовж 2-х поколінь після передпосівної обробки насіння з метою з'ясування механізму стимулювання Ізатізоном ростових процесів та продуктивності вівса, виявленого раніше. Для досліджень була обрана композиція розчинників ДМСО та ПЕГ400 (така ж, як у складі препарату Ізатізон: 25 % та 75 % відповідно).

Матеріали і методи

Дослідження впливу композиції розчинників проводилися в широкому діапазоні концентрації (17 варіантів) у 1-му та 2-му поколінні після передпосівної обробки насіння. Інфільтрацію насіння вівса розчинами, які містили композицію розчинників ДМСО та ПЕГ400, здійснювали за кімнатної температури упро-

довж доби, після завершення обробки насіння промивали водою і висівали в ґрунт. Усі досліди були проведені на дослідному полі ІМБГ на вівсі сорту Незламний, отриманого в нашій лабораторії згідно з технологією прискореної селекції А. І. Потопальського. Розрахунки здійснювали з використанням Excel 10 з надбудовою StatPlus LE. Величини досліджених параметрів для рослин, насіння яких обробляли розчинниками, подані у відсотках щодо до контролю.

Для характеристики ростових процесів вівса на стадії виходу в трубку нами обрана висота стебла на 43-й день росту (L_s), вимірювання здійснювали на 100 рослинах кожного з варіантів, які відбиралися через однаковий проміжок. Після завершення вегетації в кожному з варіантів досліду відбирали по 20 рослин (через однаковий проміжок) для аналізу зернової продуктивності. Як елементи зернової продуктивності нами обрані такі параметри: довжина волоті (L), кількість зерен у волоті (G), вага зерен із волоті (W). У 1-му поколінні вівса вимірювали також висоту рослин під час збирання врожаю (L_f).

Результати та обговорення

1. Вплив концентрації ДМСО та ПЕГ400 на ріст та зернову продуктивність вівса сорту Незламний у 1-му поколінні після обробки насіння.

Виявлено залежність впливу композиції розчинників на ростові процеси вівса (при виході в трубку) від її концентрації в розчинах для передпосівної обробки насіння.

За високих розведень (1000–625 разів) композиції розчинників не було виявлено її статистично достовірного впливу (рис. 1).

Для діапазону розведень 500–250 разів спостерігали стимулюючий вплив на ріст стебла: тенденцію до стимуляції росту на 10,04 % – для розведення 500 разів та статистично достовірну стимуляцію на 14,67 % – для розведення 250 разів ($P < 0,01$). Отже, за використання розведень 500–250 виявлено достовірне збільшення висоти стебла в 1/3 досліджених варіантів та ще в 1/3 – тенденцію до її збільшення. Розведення 200–50 разів не впливали на ріст стебла (рис. 1).

Для діапазону розведень 25–10 була притаманна здатність пригнічувати ріст рослин у третині досліджених варіантів (розведення 25 разів, на 11,42 %; $P < 0,05$). Високі концентрації композиції розчинників (розведення 0–5 разів) значно пригнічували ріст стебла вівса при виході в трубку в усіх досліджених варіантах (на

13,99 % – 24,7 %, $P < 0,01$; $P < 0,001$) (рис. 1).

Обробка насіння вівса композицією розчинників не виявила статистично достовірного впливу на висоту рослин під час збирання врожаю (L_f) та довжину волоті (L) (рис. 2). Водночас спостерігали достовірне зменшення кількості зерен у волоті (G) у третині досліджених варіантів, починаючи з розведення 100 разів (на 19,69 % – 22,68 %; $P \leq 0,05$). Зменшення ваги зерна з волоті (W) було притаманне тільки одному із варіантів (розведення вдвічі, на 26,89 %; $P < 0,05$) (рис. 2). Негативний вплив ДМСО+ПЕГ400 на параметри зернової врожайності за розведення 500 разів в 1-му поколінні, як і в попередньому дослідженні [1], не був виявлений.

Отже, композиція розчинників ДМСО+ПЕГ400 здатна спричинювати зміни ростових процесів вівса при виході в трубку за використання її для передпосівної обробки насіння. Упродовж дослідженого діапазону концентрацій виявлено зону позитивного впливу на ріст стебла – за високих розведень; таку, яка практично не впливала на ріст, та зону негативного впливу – за подальшого збільшення концентрації ДМСО+ПЕГ400, особливо до величин розведення 0–5 разів. Отриманий профіль нагадує такий, як і для впливу концентрації Ізатізону на ріст стебла (*публікація готується до друку*). Заслугове на увагу здатність композиції розчинників за певних концентрацій чинити негативний вплив на елементи зернової продуктивності, але за розведення 500 разів, яке було використано також у попередніх дослідженнях впливу Ізатізону на ріст та продуктивність вівса упродовж 3-х поколінь після обробки насіння [1], композиція розчинників у 1-му поколінні також не впливала на елементи врожайності (рис. 2), водночас проявлялася тенденція до стимуляції росту стебла при виході в трубку (рис. 1). Тому позитивний вплив Ізатізону на зернову продуктивність, виявлений раніше [1], може бути зумовлений наявністю метисазону в його складі, який є похідним ізатину, відомого стимулятора росту рослин.

2. Вплив концентрації ДМСО та ПЕГ400 на ріст та зернову продуктивність вівса сорту Незламний у 2-му поколінні після обробки насіння.

У 2-му поколінні після обробки насіння вівса композицією розчинників виявлено прискорений ріст стебла вівса в переважній більшості варіантів досліду: на 6,72 % – 9,29 %, $P < 0,01$;

$P < 0,05$ у $\frac{3}{4}$ досліджених варіантів – у діапазоні розведень 800–100 разів; на 11,62 % – 22,46 %, $P < 0,001$ в усіх досліджених варіантах – для розведень 50–0 разів (рис. 3).

У 2-му поколінні не спостерігали статистично достовірного впливу передпосівних обробок насіння вівса композицією розчинників на довжину волоті (L). Водночас було виявлено статистично достовірне зменшення кількості зерен у волоті (G) розведення 500 разів (на 12,76 %, $P = 0,05$) та 10 разів (на 15,47 %, $P < 0,05$), а також тенденцію до зменшення кількості зерен у волоті – для розведення 1000 разів (рис. 4). Негативний вплив на врожай зерна із волоті (W) у 2-му поколінні був притаманний для переважної більшості варіантів досліду (на 14,04 % – 20,35 %, $P < 0,05$; $P < 0,01$ (рис. 4).

Оскільки, як зазначено вище, кількість зерен у волоті в більшості варіантів оброблених рослин була такою ж, як у контрольних, зменшення врожаю зерна з волоті, очевидно, зумовлене продукуванням значної кількості дрібних, невиповнених зерен. Зниження ваги зерна з волоті в 2-му поколінні після обробки ДМСО+ПЕГ400 за розведення 500 разів внаслідок продукування здрібнілих зерен було підтверджено раніше [1].

Отже, в 2-му поколінні рослин вівса після обробки насіння композицією розчинників та-

кож спостерігали зміни ростових процесів та зернової продуктивності. На відміну від 1-го покоління, стимуляцію росту стебла виявлено упродовж усього діапазону концентрацій, такий вплив ставав більш вираженим у міру збільшення концентрації ДМСО+ПЕГ400 (рис. 3). Такий характер змін ростових процесів може зумовлюватися адаптаційними перебудовами метаболізму, які проявляються в 2-му поколінні і можуть здійснюватися за участю TOR-кіназного сигналіngu [12–15]; тригером може слугувати ПЕГ400, індуктор осмотичного стресу [3, 4]. Зазнавши дії стресу, за якого пригнічуються ростові процеси, рослини відповідають посиленням росту в наступному поколінні; ДМСО також може впливати на клітинні процеси, взаємодіяти з білками, ліпідами, нуклеїновими кислотами, змінювати експресію генів, спричинювати епігенетичні перебудови [5]. Відома також роль ДМСО як індуктора стресових сигнальних шляхів у рослин [6, 7].

Негативний вплив розчинників на елементи зернової врожайності в 2-му поколінні набуває більш вираженого характеру, що також може бути свідченням можливої участі метисазону в прояві позитивного впливу Ізатізону на зернову продуктивність вівса за обробки ним насіння перед висіванням у ґрунт.

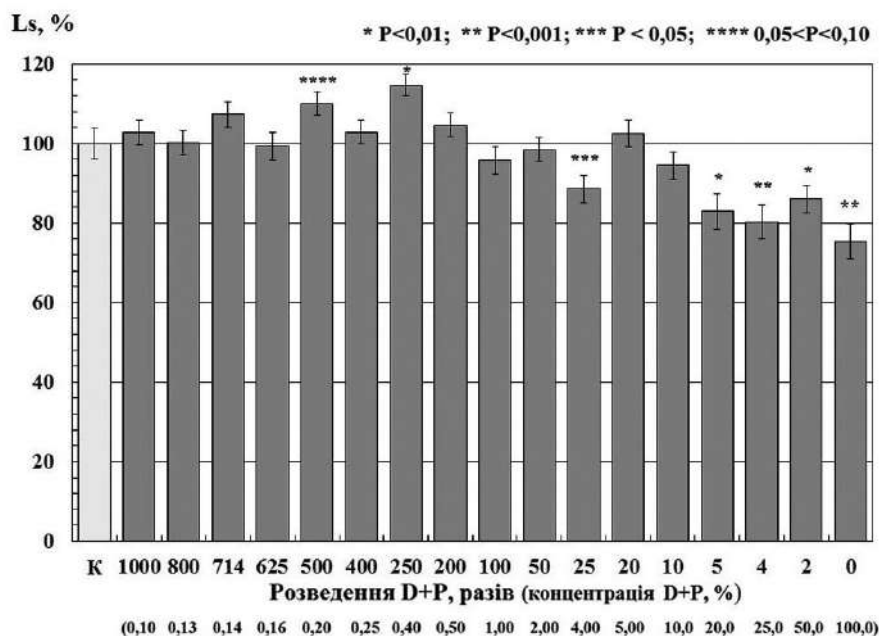


Рис. 1. Вплив концентрації композиції розчинників ДМСО та ПЕГ400 на ріст стебла вівса сорту Незламний (L_s) у 1-му поколінні після передпосівної обробки насіння; $n=100$ для кожного з варіантів, 43-я доба росту.

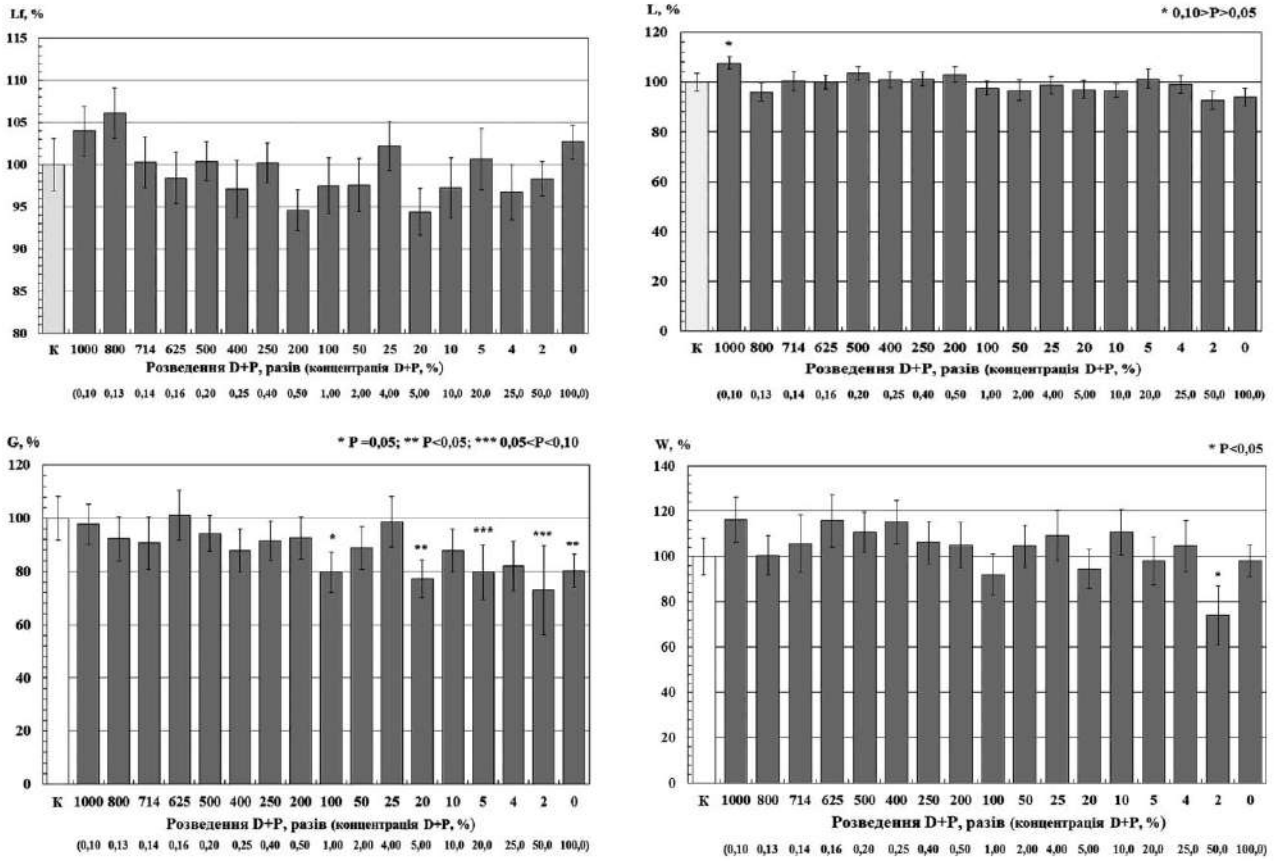


Рис. 2. Вплив концентрації композиції розчинників ДМСО та ПЕГ400 на елементи продуктивності вівса сорту Незламний у 1-му поколінні після передпосівної обробки насіння; L_f – висота стебла під час збирання врожаю, L – довжина волоті, G – кількість зерен у волоті, W – вага зерен із волоті; $n=20$ для кожного з варіантів.

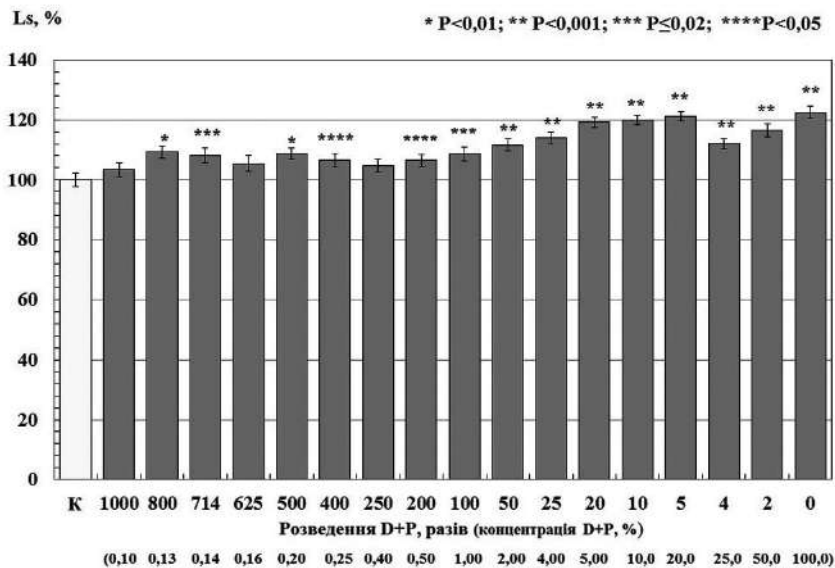


Рис. 3. Вплив концентрації композиції розчинників ДМСО та ПЕГ400 на ріст стебла вівса сорту Незламний у 2-му поколінні після передпосівної обробки насіння; $n=100$ для кожного з варіантів, 43-я доба росту.

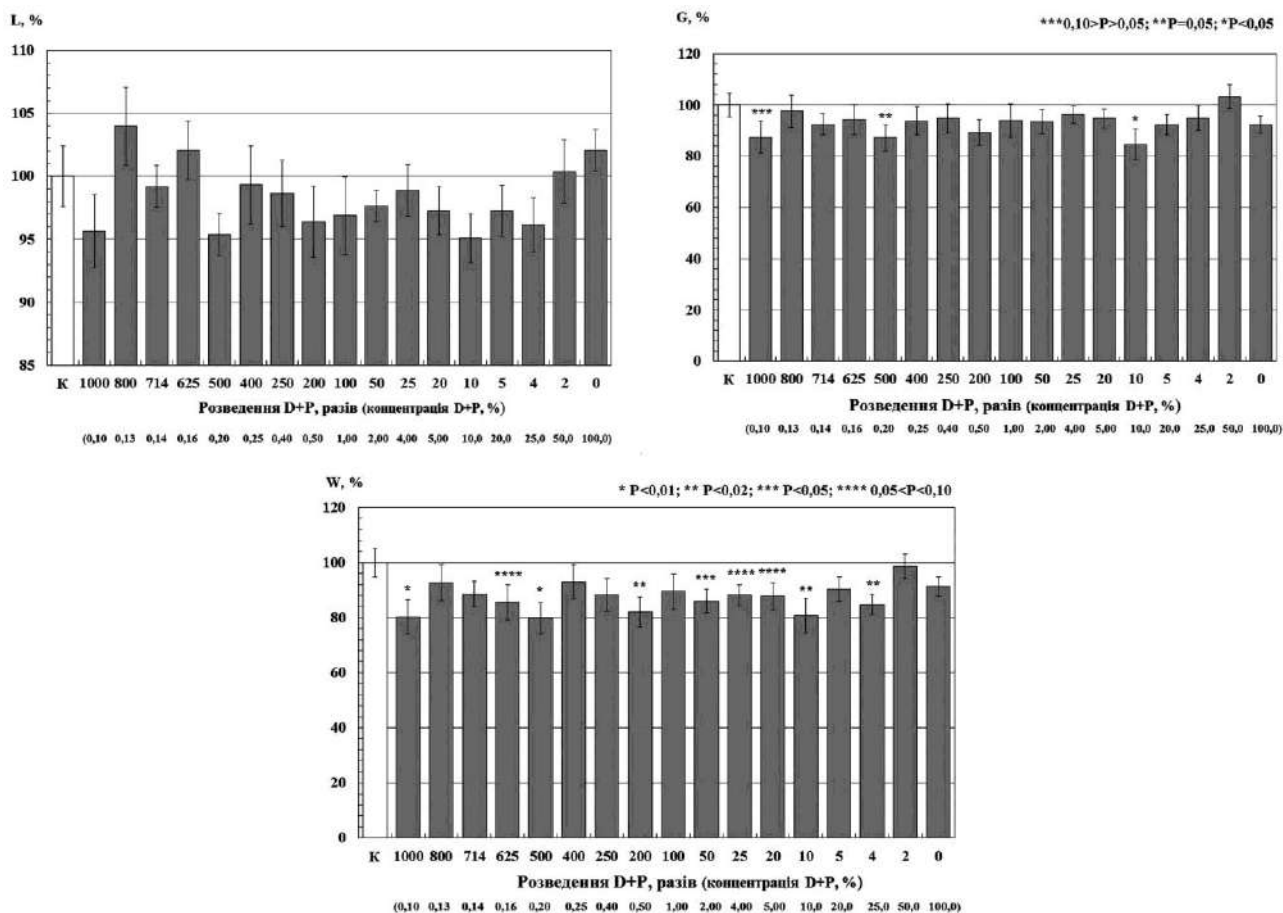


Рис. 4. Вплив концентрації композиції розчинників ДМСО та ПЕГ400 на елементи продуктивності вівса сорту Незламний у 2-му поколінні після передпосівної обробки насіння; L – довжина волоті, G – кількість зерен у волоті, W – вага зерен із волоті; n=20 для кожного з варіантів.

Висновки

Композиція розчинників ДМСО+ПЕГ400, які є складниками Ізатізону, здатна спричинювати зміни ростових процесів та зернової продуктивності вівса, і такі зміни проявляються також у 2-му поколінні після передпосівної обробки насіння.

Вплив ДМСО+ПЕГ400 на ріст стебла вівса при виході в трубку залежить від концентрації, може бути як позитивним (за високих розведень), так і негативним (у міру збільшення кон-

центрації). У 1-му поколінні може проявлятися також негативний вплив розчинників (за певних концентрацій) на зернову продуктивність вівса.

У 2-му поколінні після обробки насіння вівса спостерігали стимуляцію росту стебла упродовж усього діапазону концентрацій, такий вплив ставав більш вираженим у міру збільшення концентрації ДМСО+ПЕГ400. Негативний вплив на елементи зернової продуктивності більш виражено проявлявся в 2-му поколінні.

References

1. Katsan, V.A., Yurkevych, L.N. & Potopalsky, A.I. Izatison and Nanosilver are able to induce the Changes in Growth and Productivity of Oat Plant Cultivar Nezlamny persisting in the Next Generations. Factors in Experimental Evolution of Organisms: Kyiv, Vavilov Society of Genetics and Breeders of Ukraine. 2015. Vol.16. P. 114–119. [in Ukrainian]
2. Katsan, V.A., Yurkevych, L.N. & Potopalsky, A.I. Izatison and Its Constituents May Induce the Changes of Some Adaptive Functions of Plants Persisting in the Next Generations after Treatment. Books of Abstracts “Fourth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research”. May 23-27 2016: Niš, Serbia, 2016. P. 74.
3. Katsan, V.A., Yurkevych, L.N. & Potopalsky, A.I. Influence of Izatison and Nanosilver on the Content of the Photosynthetic Pigments in the Oat Nezlamny over two Generations after Treatment. *Factors in Experimental Evolution of Organisms*: Kyiv, Vavilov Society of Genetics and Breeders of Ukraine. 2016. Vol.19. P. 133–138. [in Ukrainian]

4. Katsan, V.A. & Potopalsky, A.I. Izatison Constituents DMSO and PEG 400 Can Also Influence on the Productivity and Adaptability of the Oat Plants. Proceedings of III International scientific conference "Genetics and Biotechnology XXI century: problems, advances and perspectives": Minsk, 2016. P.146.
5. Su, L.C, Deng, B., Liu, S., Li, L.M., Hu, B, Zhong, Y.T.& Li, L. Isolation and characterization of an osmotic stress and ABA induced histone deacetylase in *Arachis hyogogaea*. *Front Plant Sci.* 2015. Vol.13 (6). P. 512. Retrived from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X1630016X>.
6. Uzilday, B., Turkan, I, Ozgur, R. & Sekmen, A.H. Strategies of ROS regulation and antioxidant defense during transition from C₃ to C₄ photosynthesis in the genus *Flaveria* under PEG-induced osmotic stress. *J Plant Physiol.* 2014. Vol. 171(1). P. 65–75. doi: 10.1016/j.jplph.2013.06.016.
7. Tuncer , S., Gurbanov, R., Sheraj, I., Solel, I., Esenturk, O. & Banerjee, S. Low dose dimethyl sulfoxide driven gross molecular changes have the potencial to interfere with various cellular processes. *Sci. Reports.* 2018. 8:14828. doi: 10.1038/s41598-018-33234-z.
8. Mannan A., Liu, S., Aesenault, P.R.,Towler, M.J., Vail, D.R., Lorence, A. & Weathers, P.J. DMSO triggers the generation of ROS leading to an increase in artemisin and dihydroartemisinic acid in *Artemisia annua* shoot cultures. *Plant Cell Rep.*2010. Vol. 29 (2). P. 143-152. doi: 10.1007/s00299-009-0807-y.
9. Nguyen, H. T. H., Bouteau, F., Mazars, C., Kuse, M. & Kawano, T. Enhanced elevations of hypo-osmotic shock induced cytosolic and nucleic calcium concentrations in tobacco cells by pretreatment with dimethyl sulfoxide. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.* 2019. Vol. 83(2). P. 318–321. doi: 10.080/09168451.2018.1533801.
10. Zaika, L.A., Bolsunova, O.I. & Potopalsky, A.I. Antiviral, antitumor and immunomodulatory Properties of therapeutic Preparation Izatison. Kyiv: Colobig, 2010. 212 p. [in Ukrainian]
11. Medvedev, A., Buneeva O., Glover V. Biological Targets for Isatin and its Analogues: Implication for Therapy. *Biologics: Targets&Therapy.* 2007. Vol. 1 (2). P.151–162.
12. Elhiti M. & Stasolla K. Structure and function of homodomain-leucine zipper (HD-Zip) proteins. *Plant Signalling&Behavior.* 2009. Vol. 4 (2). P. 86–88. doi: 10.4161/psb.4.2.7692.
13. Wang, H., Li ,G.B., Zhang, D.Y., Lin, J., Sheng, B.L., Han, J.L. & Chang Y.H. Biological functions of HD-Zip transcription factors. *Yi Chuan (China).* 2013. Vol.35 (10). P. 1179–88. doi: 10.3724/sp.j.1005.2013.01179.
14. Xiong, Y. & Sheen, J. Novel links in the plant TOR kinase signaling network. *Curr Opin. Plant Biol.* 2015. Vol. 28. P. 83–91. Retrived from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4612364/>.
15. Roustan, V., Jain, A., Teig, M., Ebersberger, I. & Weckwerth W. An evolutionary perspective of AMPK-TOR signaling in the three domains of life. *J. Exp. Bot.* 2016. Vol. 67 (13). P.3897–907. doi: 10.1093/jxb/erw211.
16. Figueroa, C.M . & Lunn, J.E. A Tale of Two Sugars: Trehalose 6-Phosphate and Sucrose. *Plant Physiol.* 2016. Vol.172 (1). P. 7–27. doi: 10.1104/pp.16.00417.
17. Sun, L., Yu, Y., Hu, W., Min, Q., Kang, H., Li, Y., Hong, Y., Wang, X. & Hong, Y. Ribosomal protein S6 kinase1 coordinates with TOR-Raptor2 to regulate thylakoid membrane biosynthesis in rice. *Biochim Biophys Acta.* 2016. Vol. 1861 (7). P. 639–49. doi: 10.1016/j.bbali.2016.04.009.

KATSAN V.A.¹, POTOPALSKY A.I.^{1,2}, ZADOROZHNI B.O.^{1,2}

¹ *Institute of Molecular Biology and Genetics of Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 150, e-mail: val.katsan@gmail.com*

² *Institute of health improvement and rebirth of the peoples of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 150, e-mail:labmsbar@gmail.com*

INFLUENCE OF THE CONSTITUENTS OF IZATISON, DMSO AND PEG400, ON THE GROWTH AND THE GRAIN PRODUCTIVITY OF THE OAT CULTIVAR NEZLAMNY DURING TWO GENERATIONS AFTER THE SEED TREATMENT

Aim. The investigation of the influence of the constituents of Izatison, DMSO and PEG400, on the oat growth and its grain productivity during 2 generations after the seed treatment became the aim of this study for the elucidation of mechanism of Izatison stimulant influence. **Methods.** The broad scale of the concentrations of the solvents composition in the proportion, to be as in Izatison, was used. The plants were grown in the field. The growth processes were evaluated by the stem height on the tubing stage. The grain productivity was characterized by the panicle length, the grains number in the panicle and of theirs weight. **Results.** The dependence of influence of the solvents composition on the stem growth from its concentration was detected in the first generation. In some variants the negative influence was revealed on the grains number in the panicle and on theirs weight. The stimulation of the growth regardless from the solvents concentration was observed in the second generation and the more pronounced negative effect on the grain productivity. **Conclusions.** The solvents DMSO and PEG400 are able to influence on the oat growth and its productivity, and that effect was manifested also in 2 generation after the seed treatment.

Keywords: Izatison, DMSO, PEG400, oat growth and grain productivity.