

ВЫТЯЖКА ИЗ ЛИСТА СТЕВИИ – ПРИРОДНЫЙ СТИМУЛЯТОР РОСТА РАСТЕНИЙ

А.А. Кочетов, Н.Г. Синявина

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, sinad@inbox.ru

Аннотация. В условиях регулируемой агроэкосистемы проведены исследования влияния водной вытяжки из сухого листа стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) на всхожесть семян, рост проростков и продуктивность растений салата и огурца. Выявлена стимуляция роста проростков при обработке семян исходной вытяжкой без ее разведения (концентрация основных стевииолгликозидов – 1-1,2 мМ). Трехкратная некорневая обработка салата и огурца вытяжкой с концентрацией стевииолгликозидов 20-25 мкМ повышала биомассу обеих культур на 29-35%. Данный эффект объясняется наличием у стевииолгликозидов гиббереллиноподобной активности, что позволяет нам рекомендовать вытяжку из стевии в качестве эффективного и экологически безопасного стимулятора роста растений.

Ключевые слова: *стевия, водная вытяжка из листьев, гиббереллиноподобная активность, рост растений, стимуляция*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1285-1289

Стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) – новая перспективная сельскохозяйственная культура, листья которой содержат диетические натуральные сахарозаменители, безопасные для человека при длительном употреблении в питании. Подсластители из стевии (дитерпеновые гликозиды) широко используются в мировой пищевой промышленности в качестве низкокалорийных сахарозаменителей. Общее содержание сладких гликозидов в сухом листе варьирует от 4 до 25% в зависимости от генотипа, фазы развития и условий выращивания. Стевиозид и ребаудиозид А в сумме составляют 80-95% от общего содержания стевииолгликозидов (СГ). Все СГ имеют сходное строение, являются производными стевииола и различаются только составом углеводных остатков в положениях С13 и С19.

Энткауреновый скелет СГ сходен по строению с молекулой гиббереллина и так же, как и гиббереллин формируется по метилэритритолфосфатному пути биосинтеза изопреноидов [Totte et al., 2000; Brandl, Telmer, 2007]. Вероятнее всего, этим объясняется наличие гиббереллиноподобной активности у растворов СГ, выявленной в ряде исследований [Komai et al., 1983, 1985; Villalobos et al., 1994; Olivera et al., 2008; Тимофеева и др., 2010, 2015]. В работах этих и других исследователей показано положительное влияние СГ на прорастание семян, рост и урожай ряда культур, устойчивость к воздействию низких температур и тяжелых металлов, а также к условиям засухи.

Однако практически все исследователи изучали действие на растения химически чистых СГ. Влияние же всего комплекса биологически активных соединений, содержащихся в стевии, практически не изучено. В состав экстрактов из листьев стевии помимо углеводов входят белки и аминокислоты, флавоноиды, оксикоричные кислоты, водорастворимые пигменты, витамины и др. [Wölwer-Rieck, 2012]. Большое количество публикаций содержит данные о высокой антиоксидантной активности экстрактов.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния водной вытяжки из сухих листьев стевии (ВВЛ), выращенной в условиях светокультуры на базе ФГБНУ АФИ (г. Санкт-Петербург), на всхожесть и энергию прорастания семян салата и огурца, рост и продуктивность растений.

Материалы и методы. Исследования проводили в условиях регулируемой агроэкоисотемы с использованием оригинального вегетационно-облучательного оборудования при контролируемых параметрах окружающей среды. В качестве источника освещения использовали лампы ДНаЗ-400 (ООО «Рефлекс»). Для приготовления вытяжек использовали сухие листья стевии, выращенной в светокультуре при оптимальных режимах, способствующих активному вегетативному росту [Кочетов, 1996]. Растения высушивали в сушильном шкафу при 80 °С в течение суток, сухие листья измельчали до порошкообразного состояния, брали навеску 1г и трижды последовательно проводили экстракцию 20 см³ дистиллированной воды в течение 30 мин в термостате при 90-100 °С. Экстракты объединяли и доводили дистиллированной водой до общего объема 100 см³. В полученной вытяжке из листьев определяли содержание стевииозида и ребаудиозида А [Руководство..., 2004] и использовали ее для последующего разведения и обработки растений. Вытяжку готовили непосредственно перед обработкой растений. Содержание СГ в сухом листе стевии составляло 8-10%, что соответствовало 1-1,2 мМ.

Объектами исследования служили семена, проростки и растения салата сорта Тайфун и огурца сорта Зозуля. Изучали влияние вытяжки из стевии на всхожесть, энергию прорастания семян и рост проростков по следующей методике: сухие семена с предварительно определенной всхожестью помещали на 4 часа в колбу с водой при непрерывном барботировании для первичного набухания, затем переносили на 2 часа в колбы с разведениями исходной ВВЛ. Обработанные семена помещали в чашки Петри на бумажные фильтры в количестве 50 шт. для салата и 30 шт. для огурца (n=3), добавляли 5 см³ водопроводной воды, переносили в термостат и инкубировали при 23 °С, по стандартной методике определяли энергию прорастания, процент всхожести семян и проводили измерение длины гипокотилия и корня проростков. Варианты опыта: контроль – водопроводная вода; разведения исходной ВВЛ водопроводной водой в соотношении 1:100, 1:20, 1:10, 1:4, 1:2 и исходная вытяжка без разведения.

Для исследования влияния ВВЛ стевии на рост растений проростки салата и огурца высаживали в стандартные кассеты с субстратом на основе верхового торфа с минеральными добавками, для салата размер ячеек был 5x5x5 см, для огурца – 8x8x8 см. Растения выращивали в светоустановках при 14-часовом фотопериоде и облученности 60-70 Вт/м²ФАР. Температуру поддерживали на уровне 22±3 °С днем и 18±3 °С ночью. Полив салата осуществляли водой, подкормку – раствором 1н Кнопа два раза в неделю, для полива растений огурца использовали раствор 1н Кнопа. Некорневую обработку растений проводили три раза за вегетацию: для салата – на 18, 21 и 24 сутки, для огурца – на 11, 14 и 17 сутки. Варианты опыта были следующие: контроль – водопроводная вода; разведения исходной ВВЛ для салата 1:1000, 1:200, 1:100, 1:50, 1:34, 1:25, 1:17, для огурца – 1:100, 1:50, 1:25, 1:17. Размер оцениваемой выборки составлял для салата 16 растений, для огурца – 10 растений (n=3). Уборку салата проводили на 30 сутки, огурца – на 21 сутки (в фазе 5-6 листа). При уборке учитывали количество и размер листьев, диаметр розетки салата, высоту побега огурца, сырую и сухую массу растений.

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным, обработка семян ВВЛ стевии способствовала увеличению длины корешка и гипокотилия проростков обеих культур. Максимальный эффект наблюдался при применении неразведенной вытяжки (концентрация СГ 1-1,2 мМ). Прирост корня и гипокотилия у проростков салата составлял 90% и 24% соответственно, у проростков огурца – 13% и 36% соответственно по отношению к контролю. Для семян огурца выявлена чувствительность к обработке ВВЛ в большом диапазоне концентраций: статистически достоверное увеличение длины гипокотилия происходило в диапазоне разведений от

1:10 до 1:2 (100-500 мкМ СГ). Нами не было обнаружено статистически достоверного влияния вытяжки на энергию прорастания и всхожесть семян обеих культур. У огурца эти показатели составляли 100% во всех вариантах опыта, у салата наблюдаемые изменения энергии прорастания семян после обработки ВВЛ носили характер положительной тенденции (6-11% по сравнению с контролем), всхожесть салата не изменялась.

Некорневая обработка вегетирующих растений салата ВВЛ в диапазоне разведений 1:100 – 1:17 способствовала увеличению биомассы растений, числа листьев в розетке и их размеров (таблица). Максимальный положительный эффект, выявлен для разведения исходной ВВЛ 1:50 (20-25 мкМ СГ). Обработка растений ВВЛ при больших разведениях (1:200 и 1:1000) не оказывала достоверного влияния на параметры продуктивности салата.

Таблица.

Биометрические показатели и надземная масса салата с. Тайфун при некорневой обработке вытяжкой из листа стевии (данные приведены в % к контролю, контроль – обработка водой)

Вариант (разведение)	Число листьев	Длина листа	Ширина листа	Диаметр розетки	Масса растения	
					Сырая	Сухая
1:1000	101	98	99	100	98	106
1:200	100	98	99	100	97	111
1:100	107	102	103	105	119*	135*
1:50	111*	105	110*	106	125*	135*
1:34	106	102	103	102	116*	133*
1:25	106	100	102	102	108	122*
1:17	104	100	102	101	108	124*

Примечание: *отличия от контроля достоверны при $P \leq 0,05$

Показано, что некорневая обработка ВВЛ активизирует накопление сухого вещества у растений салата во всех вариантах опыта, что свидетельствует о повышении питательной ценности получаемой растительной продукции. Прибавка по сухой массе у обработанных ВВЛ растений была более значительная по сравнению с сырой (22-35% против 8-25% соответственно).

Некорневая обработка ВВЛ стевии растений огурца также оказывала стимулирующее влияние на рост растений. В значительной степени увеличилась их высота (11-28%), прибавка по сырой и сухой массе для разных разведений составляла 1-28% (сырая масса) и 6-29% (сухая масса). Увеличение количества листьев и их размеров наблюдали только в варианте ВВЛ 1:50, где оно не было статистически достоверным. Как и для салата, для огурца наиболее эффективным было разведение 1:50, в котором увеличение высоты растений составляло 28%, а прибавка по сырой и сухой массе – 25 и 29% соответственно.

Полученные результаты в целом согласуются с данными других исследователей по гиббереллиноподобному действию растворов СГ на растения и свидетельствуют о перспективности применения вытяжки из сухого листа стевии в растениеводстве.

Заключение. В серии экспериментов, проведенных в регулируемых условиях, показано стимулирующее влияние водной вытяжки из сухих листьев стевии на рост проростков и вегетирующих растений салата и огурца, выявлены эффективные действующие концентрации вытяжки. Установлено, что для обработки семян целесообразно применять неразведенную вытяжку, приготовленную по применяемой нами методике (концентрация основных СГ 1-1,2 мМ), в то время как для некорневой обработки растений максимальный ростстимулирующий эффект наблюдался при

разведении вытяжки 1:50 (концентрация СГ 20-25 мкМ). Ростстимулирующий эффект вытяжки объясняется, по-видимому, присутствием в ней стевииолигосахаридов – веществ с гиббереллиноподобным строением и действием. Возможное влияние других биологически активных веществ, содержащихся в водной вытяжке из листьев стевии – белков, аминокислот, фенолов, флавоноидов и др., – требует дополнительного изучения. Высокая эффективность действия, низкая себестоимость, экологическая безопасность и простота производства могут служить основанием для рекомендации к использованию вытяжки из сухого листа стевии в качестве препарата, стимулирующего рост растений.

Литература

Кочетов А.А. Изучение особенностей роста и развития растений (*Stevia rebaudiana* Bertoni) в регулируемых условиях. Автореф. дис. ... канд.биол.наук. ФГБНУ АФИ, Санкт-Петербург, 1996. – 22 с.

Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Р.4.1.1672-03. – М.: Минздрав России, 2004. – 368 с.

Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Мифтахова И.Г. Производные дитерпеноидастевиола регулируют рост и повышают морозоустойчивость озимой пшеницы // Доклады Академии наук. – 2010. – Т. 435, № 2. – С. 282–285.

Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Михайлов А.Л., Стробыкина А.С., Шаймуллина Г.Х. Стевиозид – новый природный регулятор роста и устойчивости растений // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием и школа молодых ученых «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий». 2015 г. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2015. – С. 526.

Brandle J.E., Telmer P.G. Steviol glycoside biosynthesis // *Phytochemistry*. – 2007. – V. 68, No. 14. – P. 1855–1863.

Komai K., Iwamura J. Effects of stevioside and its relative compounds on growth of rice and lettuce seedlings // *J. Pesticide Sci.* – 1983. – V. 8, No. 4. – P. 445–450.

Komai K., Iwamura J., Morita T., Hamada M. Effect of stevioside and its related compounds on the induction of α -amilase biosintesis // *J. Pesticide Sci.* – 1985. – No. 10. – P. 113–117.

Oliveira B.H., Stiirmer J.C., Filho J.D.S. Plant growth regulation activity of steviol and derivatives // *Phytochemistry*. – 2008. – V. 69, No. 7. – P. 1528–1533.

Totté N., Charon L., Rohmer M., Compennolle F., Baboeuf I., Geuns J.M. Biosynthesis of the diterpenoid steviol, an ent-kaurene derivative from *Stevia rebaudiana* Bertoni, via the methylerythritol phosphate pathway // *Tetrahedron Letters*. – 2000. – V. 41, No. 33. – P. 6407–6410.

Villalobos N., Martin L., Macias M.J., Mancheno B., Grande M. Gibberellin-like activity of some tetracyclic diterpenoids from *elaeoselinum* species and their derivatives // *Phytochemistry*. – 1994. – No. 37. – P. 635–639.

Wölwer-Rieck U. The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2012. – V. 60, No. 4. – P. 886–895.

EXTRACT FROM STEVIA LEAVES IS NATURAL PLANT GROWTH STIMULATOR

A.A. Kochetov, N.G. Siniavina

Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia, *sinad@inbox.ru*

Abstract. The purpose of this experiment was to study of the effect of water extract from dry stevia leaves (*Stevia rebaudiana Bertoni*) on the seeds germination and on the growth and net-productivity of lettuce and cucumber. The experiments were carried out under controlled condition (artificial light). The growth stimulation of seedlings was revealed during the seeds treatment with the initial extract without dilution (at the concentration of basic steviol glycosides – SG – in the extract 1-1.2 mM). Three foliar treatment of lettuce and cucumber with extracts from Stevia with a concentration of 20-25 μ M SG increased the net-productivity of both crops by 29-35%. This effect is apparently due to the presence of Gibberellin-like activity in SG. Water extract from stevia leaves can be recommended as an effective and environmentally safe plant growth stimulator.

Keywords: *stevia, water extract from leaves, controlled condition, plant growth, stimulation*