

Využití brassinosteroidů k regulaci stresu během růstu a tvorby výnosu řepy cukrové

UTILIZATION OF BRASSINOSTEROIDS TO STRESS CONTROL DURING GROWTH AND YIELD FORMATION OF SUGAR BEET

Dana Hradecká¹, Jaroslav Urban¹, Ladislav Kohout², Josef Pulkrábek¹, Roman Hnilička¹

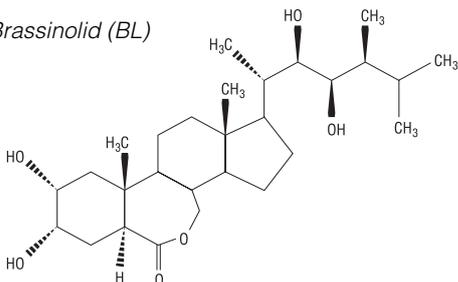
¹Česká zemědělská univerzita v Praze

²Ústav organické chemie a biochemie AV ČR

Brassinosteroidy jsou steroidní rostlinné hormony, známé od roku 1988. Aktivují dlouhivý růst a stimulují buněčné dělení. Jsou dosud málo prozkoumané. V současnosti byly zjištěny i v zeleném čaji, borovici, fazoli, hálkách kaštanu a četných dalších rostlinách. Jsou přítomny i ve včelím medu. Byly pojmenovány podle řepky (*Brassica napus* L.), z jejíhož pylu byla jedna z nich – brassin – prvně izolována. Dnes je jich známo již na 70. Přírodní se označují jako brassinolidy (BL). Syntetické a jejich deriváty jako brassinosteroidy (BR). Pod pojmem brassinosteroidy bývají označovány i brassinolidy připravené v laboratoři. Příklad struktury brassinolidu znázorňuje obr. 1.

Jejich aktivita spočívá v interakci s ostatními fytohormony. Působí na buněčné membrány, metabolismus RNA + DNA i fotosynteticky aktivní pletiva rostlin. Brassinosteroidy stimulují auxiny, účastní se regenerace tkání, fotomorfogeneze, diferenciace cévních svazků, přenosu signálních látek růstu, řídí stárnutí a adaptační reakce k stresu. Podporují růst adventivních kořenů, samičích květů a zvyšují HTS až o 45 % (1). KHRIPACH, ZHABINSKI, GROOT (2) zjistili, že aktivita brassinosteroidů je determinována koncentrací: dávka 0,1 ppm brassinosteroidů stimulovala tvorbu sušiny, dávka 1,0 ppm ji inhibovala. HAYAT a AHMAD (3) zjistili, že brassinosteroidy zvyšují obsah nenasycených mastných kyselin a snižují podíl nasycených u olejnin, což má příznivý vliv na lidské zdraví. U cukrovky, ředkve, obilí a rajčat brassinosteroidy regulují membránové potenciály, zvyšují příjem draslíku a současně snižují příjem kadmia, zinku, olova, mědi, cesia a stroncia ze spadů. Omezují houbové choroby hlíz brambor, čímž udržují jejich jakost. Optimalizují minerální složení komodit. V minulosti jsme na ČZU v Praze zjistili, že brassinosteroidy působí zvláště intenzivně v zátěžových podmínkách, při nízkých a extrémních teplotách, za sucha, na chudých půdách a v poškozených potostech. KEFELI, PRUSAKOVOVA a ČIŽOVA (4) uvádějí, že je znám příznivý vliv na porosty poškozené exhaláty a ozonem.

Obr. 1. Brassinolid (BL)



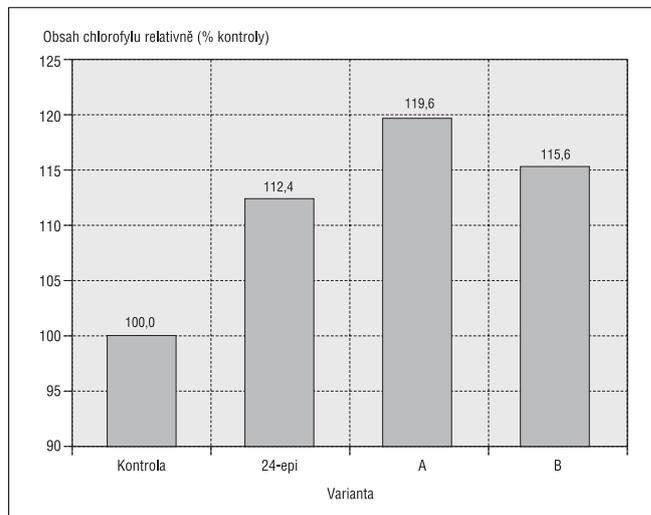
V letech 2005 a 2007 jsme se soustředili na posouzení vlivu brassinosteroidů na fyziologické procesy fotosyntézy. Následně na posouzení vlivu brassinosteroidů na výnosové a kvalitativní ukazatele cukrové řepy u přírodního 24-epi a potenciálně výkonnějších derivátů připravených Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. Protože u nových látek právě probíhá patentové řízení, jsou z důvodu nezbytného utajení a respektování priorit výzkumu nové deriváty označeny abecedně místo vzorců chemické struktury.

Materiál a metody

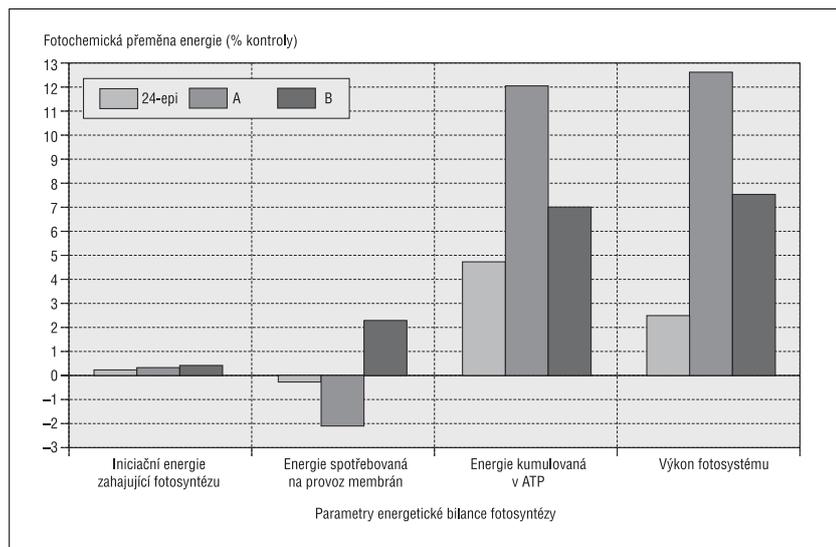
Pro ověření vlivu přírodního 24-epi (připraveného v laboratoři) a vybraných potenciálně účinnějších derivátů (A a B) byl založen maloparcelkový pokus (n = 4 opakování) na Výzkumné stanici v Červeném Újezdě (okres Praha-západ).

Cukrovka (*Beta vulgaris* L.), odrůda Merak – tolerantní k rizománii a středně odolná vůči skvrnatičce řepné (*Cercospora beticola*) byla ve fázi 19 BBCH (devět a více listů rozvinuto) ošetřena látkami: 24-epi, A a B (koncentrace $1 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹). Zmíněné varianty byly porovnány s variantou kontrolní – bez ošetření.

Obr. 2. Obsah chlorofylu v listech cukrovky po aplikaci vybraných brassinosteroidů (srovnání přírodního 24-epi a nových syntetických derivátů A, B)



Obr. 3. Fotochemická přeměna energie při tvorbě asimilátů



Fyziologické účinky byly posuzovány změnami obsahu chlorofylu po 14 dnech po ošetření rostlin řepy cukrové. Chlorofyl byl stanoven chlorofylmetrem SPAD-502.

Tři týdny po aplikaci byla hodnocena energetika fotosyntézy rychlou fluorescenční indukcí listů (RFI). Současná fluorescenční technika (RFI) – Analyser „PEA“ Verze P02.003, software Winpea 32, umožňuje okamžité posouzení vlivu brassinosteroidů na fotosyntézu. Bylo provedeno deset opakování z každé varianty. Měření probíhalo po dobu 20 minut zatemnění listu speciální svorkou, které je nezbytné, aby se odplavily vytvořené asimiláty. Analýza vychází z hodnocení fluorescence listů jako reakce na umělý světelný impulz z definovaného zdroje. Metoda slouží k zachycení změn přeměny látkové, způsobených stresem.

Byl stanoven výkon fotosystému PS (resp. přeměna nestálé zářivé energie fotonů v chemicky vázanou stabilní formu). Byly použity modely určující podíl energie na přeměně energie využitou rostlinou k zahájení fotosyntézy a podíly energie přeměněné v teplo, které mění porostní mikroklima a energie emitované zpět do atmosféry (5, 6, 7, 8, 9).

Dále byl sledován vliv použitých brassinosteroidů na výnosové a kvalitativní ukazatele cukrové řepy: výnos bulev a chrástu; cukernatost; obsah α -aminodusíku, draslíku a sodíku; výnos polarizačního a bílého cukru a výnos bulev přepočtený na 16% cukernatost (tab. I.).

Tab. I. Výnos a kvalita cukrovky po aplikaci vybraných brassinosteroidů

Varianta	Výnos bulev (t.ha ⁻¹)	Výnos chrástu (t.ha ⁻¹)	Cukernatost (%)	Melasotvorné látky			Výnos polar. cukru (t.ha ⁻¹)	Výnos bílého cukru (t.ha ⁻¹)	Výnos bulev _{16%} (t.ha ⁻¹)
				α -N	K	Na			
				(mmol.100 g ⁻¹)					
Kontrola	69,16	52,41	18,38	2,33	3,60	0,47	12,71	11,81	81,55
(% kontroly)									
24-epi	103,94	100,09	101,63	108,57	98,16	94,02	105,63	105,84	105,92
A	104,60	103,80	99,71	98,98	100,66	86,59	104,29	104,37	104,24
B	104,71	99,64	101,04	109,75	99,06	89,77	105,80	105,92	105,98

Výsledky a diskuse

Vliv brassinosteroidů na obsah chlorofylu a energetiku fotosyntézy

Aplikované látky zvyšovaly obsah chlorofylu v listech záhy po ošetření (obr. 2.). Výsledky naznačují, že v účinnosti sledovaných látek na obsah chlorofylu jsou rozdíly, které souvisejí s chemickou strukturou látek, jejich příjmem a rychlostí metabolické přeměny v rostlinách. Větší efekt přineslo ošetření synteticky připravenými deriváty (A a B) v porovnání s přírodním 24-epi. Sledované látky rovněž ovlivnily proces fotochemické stabilizace energie (obr. 3.). Z grafu je zřejmé, že nejméně je látkami ovlivněna potřeba iničiační energie, která je nezbytná k zahájení fotosyntézy. Je to rigidní parametr, daný genotypem a vykazuje značnou stabilitu. Jeho změny mohou vyvolat v ojedinělých případech mimořádné zátěžové situace.

Energie spotřebovaná membránami, svědčí o rychlosti fotosyntetických přeměn při vazbě energie. Některé brassinosteroidy ji snižují, jiné naopak zvyšují. Tento parametr kumuluje veškerou potřebu energie na membránách při postupu od světloběrných „antén“ molekuly chlorofylu k molekulárně aktivním strukturám, reakčním centřům, účastným na vazbě energie.

Energie vázaná v adenosintrifosfátu (ATP) koreluje s výkonem fotosystému, produkcí sušiny a tvorbou zásobních asimilátů. Zatímco přírodní 24-epi ji zvyšuje zhruba o 5 %, syntetické deriváty o 7,5–12,5 %, což koreluje se zhruba 3% vzrůstem výkonu asimilátů po přírodních a 8–13,3% po syntetických, nově připravovaných látkách.

Vliv brassinosteroidů na výnosové a kvalitativní ukazatele cukrovky

Hodnocení sledovaných ukazatelů vychází z pokusného roku 2005 a 2007. Z dosažených výsledků (tab. I) vyplývá, že se sledované brassinosteroidy (24-epi, A a B) projeví pozitivně. V porovnání s kontrolou dosáhly varianty ošetřené brassinosteroidy vyššího výnosu bulev, vyššího výnosu polarizačního a bílého cukru. Obsah melasotvorných látek (tj. α -aminoN, draslík, sodík) byl po aplikaci brassinosteroidů rovněž příznivější s výjimkou obsahu α -aminoN. Výnos bílého cukru (který v sobě zahrnuje jak výnos bulev, tak kvalitativní parametry) stoupl po aplikaci brassinosteroidů relativně o 4,37 % až 5,92 %. Nejpříznivěji se ze sledovaných látek projevil přírodní 24-epi a synteticky připravený derivát B.

Závěr

Z dosažených výsledků můžeme konstatovat, že:

- aplikované brassinosteroidy zvyšovaly obsah chlorofylu,
- aplikované brassinosteroidy nemění potřebu iničiační energie k zahájení fotosyntézy,

- spotřeba energie membránami kolísala dle individuálního chemického charakteru látek a jeho vlivu na přeměnu látkovou,
- sledované brassinosteroidy zvyšovaly kumulaci energie v ATP a v relaci s ní výkon fotosystému,
- výkon fotosystému a kumulace energie v ATP významněji ovlivnily látky syntetické než přírodní 24-epi,
- sledované brassinosteroidy příznivě působily na výnosové i kvalitativní ukazatele cukrové řepy (vyjma obsahu α -aminoN),
- nejpříznivěji ze sledovaných brassinosteroidů na výnosové a kvalitativní ukazatele projevil 24-epi a derivát B. Velmi dobrých výsledků dosahoval i derivát A.

Podpořeno výzkumným záměrem MSM 6046070901 a programem AV ČR 1QS5510680.

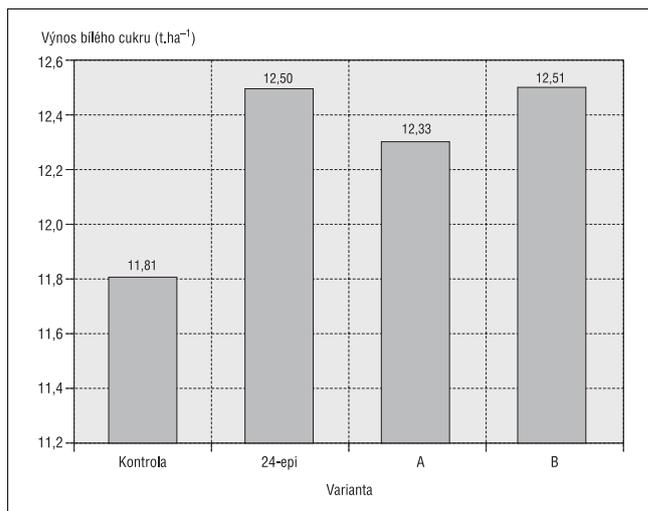
Souhrn

Brassinosteroidy působí příznivě při nenadálých stresech v polních podmínkách, při nízkých a extrémních teplotách, za sucha, na chudých půdách, atd. Jsou to steroidní fytohormony, známé od roku 1988. Jejich aktivita spočívá v regulaci ostatních fytohormonů. V maloparcelkových pokusech, které probíhaly na Výzkumné stanici v Červeném Újezdě jsme se soustředili na posouzení jejich vlivu na fyziologické procesy fotosyntézy. Následně na posouzení vlivu na výnosové a kvalitativní ukazatele cukrové řepy u přírodního 24-epi a potenciálně výkonnějších derivátů (A, B) připravených Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i. Sledován byl také obsah chlorofylu a energetika fotosyntézy. Byly porovnávány varianty 24-epi a deriváty A a B s kontrolou bez ošetření. Aplikované látky zvyšovaly obsah chlorofylu. Látky nemění potřebu iniciační energie k zahájení fotosyntézy. Potřeba energie spotřebované membránami kolísala dle individuálního chemického charakteru látek a jeho vlivu na přeměnu látkovou. Všechny sledované látky zvyšovaly kumulaci energie v ATP a v relaci s ní výkon fotosystému. Výkon fotosystému a kumulace energie v ATP významněji ovlivnily látky syntetické než přírodní 24-epi. Sledované brassinosteroidy příznivě působily na výnosové i kvalitativní ukazatele cukrové řepy (vyjma obsahu α -aminoN). Nejpříznivěji se na výnosové a kvalitativní ukazatele projevil 24-epi a derivát B. Velmi dobrých výsledků dosahoval i derivát A.

Literatura

1. SAKURAI A., YOKOTA T., CLOUSE S. D.: *Brassinosteroids – Steroidal Plant Hormones*. Springer, Berlin, 1999, 253 s.
2. KHRIPACH V. A., ZHABINSKI V. N., GROOT A. E.: *Brassinosteroids, a new class of plant hormones*. London, 1999, 456 s.
3. HAYAT S., AHMAD A.: Soaking seeds of *Lens culinaris* with 28-homobrassinolide increased nitrate reductase activity and grain yield in the field in India. *Ann. Appl. Biol.*, 143, 2003 (1), s. 121–124.
4. KEFELI I. I., PRUSAKOVOVA L. D., ČIŽOVA N. A.: Přírodní i syntetické regulátory ontogeneza rasteň. Moskva, VINIZI, 1990, 165 s.
5. KAUTSKY H., HIRSCH A.: Chlorophyllfluoreszenz und Kohlensäureassimilation I. *Fluoreszenz. grün. Pflanz. Biochem.*, 274, 1934, s. 423–434.
6. SRIVASTAVA A., STRASSER R. J., GREPPIN G.: The steady state chlorophyll a fluorescence exhibits in vivo an optimum as a function of light intensity which reflects the physiological state of the plant. *Plant Cell Physiology*, 36, 1995, s. 839–848.
7. GUISE B., SRIVASTAVA A., STRASSER R. J.: The polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence (O-K-J-I-P) in the heat stressed leaves. *Archive of Science*, 48, 1995 (2), s. 147–160.
8. STRASSER R. J., SRIVASTAVA A., MELTORPE TSIMILLI-MICHAEL L.: *The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples*. Geneva, 2000, 225 s.
9. SRIVASTAVA A., STRASSER R. J.: Stress and stress management of land plants during a regular day. *J. Plant Physiol.*, 148, 1996, s. 445–456.

Obr. 4. Vliv brassinosteroidů na výnos bílého cukru



Hradecká D., Urban J., Kohout L., Pulkrábek J., Hnilička R.: Utilization of brassinosteroids to stress control during growth and yield formation of sugar beet

Brassinosteroids act favourably in the conditions unexpected stresses in fields as e.g. low or extreme temperatures, dry weather, poor soils, etc. By their chemical structure they are steroid phytohormones known from 1988. Their activity consists of the control mechanism of other known phytohormones especially auxins and gibberelins. Small plot trials took its place at the Czech University of Life Sciences Prague in which we tested the impact of brassinosteroids on the yield and technological quality of sugar beet and on the comparison of their activity, which was analyzed by the photosynthesis and its energy balance and yielding in the vegetative period. Native 24-epi, present in some wild plants, was compared to virtually more efficient derivatives (A, B) made by the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Academy of Sciences of the Czech Republic and to control.

Chlorophyll content and energy balance of photosynthesis were studied in three variants of the experiment, treated by brassinosteroids variant compared to non treated control.

Substances applied by spray enhanced chlorophyll content. Substances unchanged needs of the energy inevitable for the beginning of the photosynthesis. The requisite of the energy by the membranes vary under specific chemical structure and in impact on the metabolism. All substances enhanced accumulation of the energy built on adenosine triphosphate (ATP) and intensified the yield of the photosystem. The accumulation of energy as the yield of photosystem was influenced more by synthetic derivatives prepared by the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of AS CR, than the native substance 24-epi. Investigated brassinosteroids positive influenced yield parameters as the quality of sugar beet, (except α -aminoN content). Most significant effect on the yield and the quality give 24-epi and the substance identified as B. Good results were also obtained by substance A.

Key words: sugar beet, yield, technological quality, brassinosteroids, fast fluorescence, chlorophyll.

Kontaktní adresa – Contact address:

RNDr. Dana Hradecká, CSc., Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra rostlinné výroby, Kamýcká 957, 165 21 Praha 6, Česká republika, e-mail: hradecka@af.czu.cz