УЛК 547.992+577.175

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ СТЕРОИДНЫХ ФИТОГОРМОНОВ В ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТАХ

© 2024 г. Р. П. Литвиновская^{1, *}, А. Л. Савчук¹, Д. В. Денисюк¹, Д. Г. Переход², Г. В. Переход², В. А. Хрипач¹

¹Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, 220084 Республика Беларусь

²ЗАО "Органик Фарминг Бел", Минск, 220033 Республика Беларусь

*e-mail: litvin@iboch.by

Поступила в редакцию 06.06.2023 г.

После доработки 09.08.2023 г.

Принята к публикации 31.08.2023 г.

Впервые показано, что в составе гуминовых препаратов содержатся стероидные фитогормоны — брассиностероиды (**БС**), количество и состав которых варьируют в зависимости от источника сырья и способа его обработки. Установлено, что качественный и количественный состав БС коррелирует с содержанием гуминовых веществ (гуминовых кислот). На примере гуминовых препаратов, полученных из сапропеля, обнаружено, что щелочная обработка приводит к высвобождению заметного количества БС, находившихся в виде конъюгатов. Данные результаты свидетельствуют о том, что БС являются важными компонентами гуминовых препаратов и, несомненно, вносят вклад в широкий спектр физиологического действия данных агропрепаратов.

Ключевые слова: брассиностероиды, гуминовые препараты, иммуноферментный анализ

DOI: 10.31857/S0555109924010092, **EDN:** HBXAMF

Гуминовые вещества являются составной частью органического вещества почвы. Они образуются при разложении растительных и животных остатков под действием микроорганизмов и абиотических факторов среды и являются основным компонентом почвенного гумуса. Известно, что при обработке растений гуминовыми препаратами происходит повышение клеточного метаболизма и скорости фотосинтеза, ускоряется транспортировка питательных веществ, улучшается работа корневой системы, подавляется развитие грибковых заболеваний и обеспечивается устойчивость к фитопатогенам [1].

Положительное действие гуминовых препаратов на рост и развитие растений неоднократно отмечалось многими исследователями. На примере растений герберы показано, что гуминовые кислоты способствуют росту растений, развитию корневой системы, улучшая усвоение питательных веществ, и в целом проявляют гормоноподобную активность [2]. Применение гуминового препарата на посевах озимой пшеницы позволяет снизить токсическое действие гербицида на основе сульфонилмочевины, улучшить обеспеченность почвы минеральными элементами питания и повысить урожайность сельскохозяйственных культур [3]. В работе [4] показано, что применение гумата калия на растениях бобов привело к повышению урожайности данной

культуры за счет увеличения индекса стабильности мембраны и относительного содержания воды, снижения утечки электролитов и накопления питательных веществ (аминокислот, сахаров).

Одной из особенностей биологической активности гуминовых препаратов является повышение устойчивости растений к воздействию неблагоприятных условий окружающей среды (абиотические и биотические стрессы) и, как следствие, расширение диапазона климатических условий их роста, развития и плодоношения. Ряд исследований посвящены изучению защитного действия гуминовых препаратов при развитии растений в условиях солевого стресса [5–8]. Неоднократно показано, что применение гумата калия снижает токсическое действие соли и повышает устойчивость растений за счет повышения эффективности процессов фотосинтеза и снижения окислительного стресса, а также увеличивает процент всхожести семян и урожайность. Данный эффект показан на примере различных растительных культур — растениях базилика [5], пшеницы [6, 7], фасоли [8] и др. Положительный эффект гумата калия при токсическом воздействии солями мышьяка на растения риса заключался в повышении процента прорастания семян, стимуляции роста проростков, повышении содержания питательных веществ, фотосинтетических пигментов, а также снижении

уровня окислительного стресса за счет уменьшения накопления мышьяка в растительных тканях [9]. Внекорневая обработка растений лука гуматом калия способствовала росту, повышала продуктивность и питательную ценность лука в условиях дефицита орошения [10, 11].

При определении соединений, отвечающих за биологическую активность гуминовых препаратов, кроме гуминовых и фульвовых кислот, называют каротиноиды, металлопорфирины, тритерпеноиды, алкалоиды, стерины и др. [12]. Учитывая тот факт, что гуминовые препараты являются биостимуляторами широкого спектра действия, можно предположить, что важной составляющей в этом контексте могут быть брассиностероиды (БС) — фитогормоны растений [13]. БС играют важную роль в регуляции роста, развития и ряда ключевых

физиологических функций, проявляют стимулирующее и стресспротекторное действие. Необходимо отметить, что БС проявляют свое биологическое действие в очень низких концентрациях. Благодаря своим свойствам стероидные фитогормоны являются основой экологически безопасных препаратов для растениеводства Эпин, Эпин плюс, причем количество необходимое для обработки 1 га посевов составляет 5–50 мг.

Проведенное нами недавно исследование образцов угля и торфа (основных источников гуминовых препаратов) разного возраста из месторождений Беларуси показало, что все они содержат стероидные фитогормоны основных природных групп (ряда 24-эпибрассинолида, брассинолида и 28-гомобрассинолида) [14]. Мы пришли к выводу, что, несмотря на сложную химическую структуру, эти

Таблица 1. Характеристика исследуемых образцов

Nº	Наименование образца (Производитель)	Состав гуминового препарата*	Содержание гу- миновых веществ в препарате**, г/л	Содержание гу- миновых кислот в препарате **, г/л
1	Жидкий биогумус (ООО "БЕЛГРУНТ", РБ)	Органическое удобрение, получаемое при биотехнологической переработке органических отходов животноводства методом вермикомпостирования с помощью технологической линии дождевого навозного червя вида <i>Eisenia foetid</i> . Состав: гуминовые кислоты не менее 2.0 г/л, Fe, Mg, B, Mn, Cu, Mo, Zn	Нет данных	2.0
2	Лигногумат марки В калийный (ООО "Агро Эксперт Груп", РФ)	Соли гуминовых веществ 18%, гуминовые кислоты 11%, фульвовые кислоты 5%, калий не менее 1.8%, сера не менее 0.6%	180.0	110.0
3	Гидрогумат калия (УП "Белуниверсал-продукт", РБ)	Массовая доля гуминовых веществ/ массовая доля органических веществ — не менее 50%, массовая доля органического вещества — не менее 7.0%	35.0	Нет данных
4	HumiFirst ("Tradecorp", Испания)	Содержание гуминовых веществ 165.0 г/л (15.0%), гуминовых кислот 132.0 г/л (12.0%), фульвовых кислот 33.0 г/л (3.0%)	165.0	132.0
	SatoHum®K (3AO "Органик фарминг Бел", РБ)	Массовая доля сухого вещества \geqslant 9.0%, органических веществ \geqslant 7.0%, содержание гуминовых кислот \geqslant 35.0 г/л, фульвовых кислот \geqslant 41.0 г/л, азота \geqslant 1.5 г/л, фосфора \geqslant 0.1 г/л, калия \geqslant 10.0 г/л	76.0	35.0
6	SatoHum [®] Complex (ЗАО "Органик фарминг Бел", РБ)	Массовая доля сухого вещества \geqslant 6.0%, органических веществ \geqslant 4.5%, содержание гуминовых кислот \geqslant 20.0 г/л, фульвовых кислот \geqslant 60.0 г/л, аминокислот \geqslant 28.0 г/л, азота \geqslant 25.0 г/л, фосфора \geqslant 17.0 г/л, калия \geqslant 25.0 г/л	80.0	20.0
7	SatoHum®K-G24 (3AO "Органик фарминг Бел", РБ)	Массовая доля сухого вещества \geqslant 8.0%, органических веществ \geqslant 7.5%, содержание гуминовых кислот \geqslant 35.0 г/л, фульвовых кислот \geqslant 45.0 г/л	80.0	35.0
8	Сухой сапропель (ЗАО "Органик фарминг Бел", РБ)	Влажность ~ 50%.	Нет данных	Нет данных

^{*} Состав указан согласно каталогу компании.

^{**} Содержание гуминовых веществ и гуминовых кислот указано согласно каталогу компании, пересчитанное в г/л для установления корреляции с содержанием БС.

гормоны достаточно стабильны в различных условиях. Поскольку гуминовые препараты в своей основе являются продуктами растительного происхождения (их, как правило, получают из бурых углей, торфа или сапропелей с помощью щелочной обработки), то, вероятно, в своем составе они имеют растительные гормоны и другие биоактивные компоненты, за счет которых, в том числе, они обладают гормоноподобной активностью и проявляют широкий спектр физиологического действия.

Цель работы — исследование гуминовых препаратов различного происхождения на предмет содержания стероидных фитогормонов — брассиностероидов.

МЕТОДИКА

В качестве объектов исследования использовали коммерчески доступные гуминовые препараты различных производителей (табл. 1). Все исследуемые образцы, кроме образца сухого сапропеля 8, имели жидкую препаративную форму. Образцы препаратов 1—4 приобретены через торговую сеть, 5—8 предоставлены фирмой-производителем. Последние получены из сапропеля, добытого в Лельчицком районе Гомельской области (Беларусь), месторождение Прибыловичи.

Получение образцов SatoHum (5-7) из сапропеля. Сапропель органический обрабатывают горячим воздухом (450°C) и измельчают (одновременно с обработкой горячим воздухом) молотковой дробилкой (100 кВт) в течение 40-80 сек. Процесс прекращают при достижении влажности ~50% и размера минимальных частиц 100 мкм (размер частиц регулируется классификатором сушильного агрегата). Таким образом получают сухой сапропель (образец 8). В реактор загружают 1560 кг воды, нагревают до 80°С и при перемешивании (140 об./мин) добавляют 15 кг КОН и 1560 кг сухого сапропеля. Состав перемешивают в течение 2.5 ч, пропускают через декантерную центрифугу и расфасовывают в тару. Конечное содержание гуминовых и фульвовых кислот в образцах препаратов 5, 6 и 7 варьирует из-за внесения различного количества добавок. Так, для получения образца 6 добавляют аминокислоты в количестве не менее 28.0 г/л. Образец 7 является экспериментальным, поэтому его описание и полный состав отсутствует в каталоге компании.

Анализ содержания БС в гуминовых препаратах. Образцы гуминовых препаратов для анализа готовили методом последовательного разведения в буферном растворе (0.05 М Трис, рН 7.4, содержащий 0.9% NaCl, 0.1% БСА, 0.02% Твин^{ТМ}20) в 10, 50, 100, 200, 400, 800 раз. Полученные растворы перед анализом центрифугировали в течение 15 мин на приборе BioSun LMC-4200R (2257 g).

Количественную оценку содержания БС в образцах гуминовых препаратов проводили методом двухстадийного иммуноферментного

анализа (**ИФА**) [15] с использованием разработанных нами ранее тест-систем (ТУ BY100185129.178—2020) для следующих групп брассиностероидов: 24-эпи- (24-эпибрассинолид, 24-эпикастастерон) [16], 24*S*-метил- (брассинолид, кастастерон) [17], 28-гомо- (28-гомобрассинолид, 28-гомокастастерон) [18], В-лактон- (брассинолид, 24-эпибрассинолид, 28-гомобрассинолид, 28-норбрассинолид) [19] и 6-кетобрассиностероидов (кастастерон, 24-эпикастастерон, 28-гомокастастерон, 28-норкастастерон) [15].

Двухстадийный ИФА проводили следующим образом. Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора брассиностероида с известной концентрацией (10^{-4} M) буферным раствором (0.05 M) Трис, рН 7.4, содержащий 0.9% NaCl, 0.1% БСА, 0.02% Твин^{ТМ}20). Раствор ферментативного конъюгата брассиностероида с пероксидазой из корней хрена (ПХ) готовили также в буферном растворе. В полистирольные лунки планшета с иммобилизованными антителами вносили по 150 мкл калибровочных проб и анализируемых образцов в дубликатах. Концентрация стероида в калибровочных пробах составляла 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 и 5 нМ. Планшет инкубировали при 37°C в течение 2 ч, после чего содержимое лунок удаляли и промывали их промывочным раствором (1%-ный NaCl, содержащий 0.02% Твин^{ТМ}20). Затем во все промытые лунки добавляли по 150 мкл раствора конъюгата соответствующего брассиностероида с ПХ и инкубировали 5 мин при 37°C. Затем удаляли содержимое, промывали, как описано выше, добавляли по 150 мкл хромоген-субстратной смеси (готовый раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина в субстратном буфере с перекисью водорода) и инкубировали при 37°C в течение 20 мин. Останавливали реакцию добавлением во все лунки по 50 мкл раствора стоп-реагента (5%-ного раствора Н₂SO₄). Оптическую плотность раствора во всех лунках измеряли на фотометре универсальном Ф300ТП (РУПП "Витязь". Беларусь) при длине волны 450 нм.

Для каждой калибровочной пробы рассчитывали средние арифметические значения оптической плотности, строили график зависимости показателя $B/B_0\cdot 100\%$ от концентрации брассиностероида в калибровочных пробах (нМ), где B и B_0 — значения оптической плотности продукта ферментативной реакции в присутствии свободного брассиностероида и без него соответственно. Методом интерполяции по калибровочному графику рассчитывали концентрацию БС (нМ) в анализируемой пробе. Сигмоидальные калибровочные кривые линеаризовали с помощью преобразования log-logit:

logit
$$B/B_0 = \ln((B/B_0)/(100 - B/B_0))$$
.

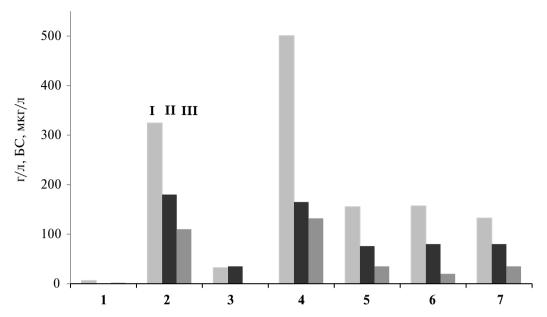


Рис. 1. Корреляция суммарного содержания БС (I, мкг/л) в гуминовых препаратах с содержанием гуминовых веществ (II — гуминовые вещества, г/л; III — гуминовые кислоты, г/л): 1 — жидкий биогумус, 2 — лигногумат марки В калийный, 3 — гидрогумат калия, 4 — HumiFirst, 5 — "SatoHum" «K, 6 — "SatoHum" Complex", 7 — "SatoHum" Care Research C

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel 2010.

Анализ содержания БС в сухом сапропеле. Сухой сапропель получали высушиванием грязевого сапропеля до влажности 46—48%. Для высокой степени извлечения БС из сухого образца сапропеля в качестве экстрагента использовали 80%ный водный метанол. Навеску сухого сапропеля 1 г экстрагировали 5 мл 80%ного водного метанола. Полученную взвесь интенсивно перемешивали, выдержали при комнатной температуре в течение 18 ч, центрифугировали. Полученный супернатант анализировали методом конкурентного ИФА по следующей методике.

Конкурентный ИФА. Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора с известной концентрацией (10⁻⁴ М) брассиностероида буферным раствором. Концентрация стероида в калибровочных пробах составляла 0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 и 30 нМ. Раствор ферментативного конъюгата брассиностероид-ПХ готовили также на буферном растворе. Концентрацию конъюгата подбирали с таким расчетом, чтобы оптическая плотность в лунке, содержащей калибровочную пробу с "нулевым" содержанием стероида, составляла не менее 2.0 опт. ед.

В полистирольные лунки планшета с иммобилизованными антителами к соответствующему брассиностероиду вносили по 100 мкл калибровочных проб в дубликатах, а затем в лунки с калибровочными пробами вносили по 25 мкл 80%-ного водного метанола. В лунки, предназначенные для анализируемых образцов, вносили по 100 мкл буферного раствора (0.05 М Трис, рН 7.4), а затем вносили по 25 мкл метанольного экстракта сухого сапропеля в повторностях. Затем во все лунки вносили по 50 мкл раствора конъюгата соответствующего брассиностероида с ПХ в буферном растворе. Планшет инкубировали в течение 2 ч при 37°С в термостате, затем удаляли содержимое лунок и промывали их промывочным раствором (4 × 150 мкл). Дальнейшую процедуру анализа и расчет результатов проводили как описано выше для двухстадийного метода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гуминовые кислоты содержатся в таких осадочных породах, как бурый уголь, сапропель и торф. Бурый уголь содержит больше всего гуминовых кислот (до 86%) [20]. Ранее были исследованы образцы нефти [21], угля и торфа на предмет содержания БС [14]. Результаты показали, что эти объекты растительного происхождения содержали значительное количество БС, состав которых меняется в зависимости от отложений, глубины скважин и других факторов.

В настоящей работе впервые исследовано количественное содержание БС в коммерчески доступных гуминовых агропрепаратах, изготовленных из различного сырья растительного и животного происхождения, методом двухстадийного ИФА.

Двухстадийный ИФА является высокочувствительным экспресс-методом количественного определения БС в многокомпонентных сложных смесях,

Суммар-24S-28-В-лак-6-кетоное со-24-эпиБС* гомоБС*** тон-БС**** БС**** метилБС** держание No Образец БС мкг/л 4.82 ± 0.386 0.018 ± 0.004 0.910 ± 0.119 0.455 ± 0.035 0.036 ± 0.007 6.239 1 Жидкий биогумус Лигногумат марки 2 222.0 ± 19.1 3.33 ± 0.500 35.72 ± 6.43 54.20 ± 6.27 9.13 ± 1.01 324.38 В калийный 3 26.7 ± 3.20 0.136 ± 0.017 3.23 ± 0.251 1.65 ± 0.060 0.608 ± 0.073 32.324 Гидрогумат калия HumiFirst 296.5 ± 32.6 5.60 ± 0.672 108.8 ± 21.76 72.25 ± 14.5 17.63 ± 3.50 500.78 4 SatoHum®K 5 31.3 ± 2.51 5.44 ± 0.34 22.9 ± 1.69 75.0 ± 4.41 20.7 ± 1.40 155.34 SatoHum®Complex 23.9 ± 2.73 8.32 ± 0.62 23.9 ± 2.45 76.7 ± 6.12 24.2 ± 2.97 157.02 6 7 SatoHum®K-G24 23.7 ± 2.72 15.9 ± 1.85 32.4 ± 0.74 39.5 ± 4.10 20.9 ± 2.52 132.4 Сухой сапропель (мкг/кг) 13.1 ± 1.01 1.36 ± 0.100 29.3 ± 2.55 4.11 ± 0.327 2.22 ± 0.294 50.09 8

Таблица 2. Содержание БС в образцах гуминовых препаратов и сухом сапропеле

эффективность и достоверность которого неоднократно подтверждена независимым инструментальным методом [14, 15, 22]. В основе двухстадийного метода ИФА лежит принцип разделения фаз взаимодействия определяемого и меченого антигенов с антителами, что позволяет существенно повысить чувствительность анализа и проводить измерения БС в различных объектах без многостадийной пробоподготовки. Высокая чувствительность метода позволяет в большей степени разводить исследуемые образцы, в частности гуминовые препараты, буферным раствором (рН 7.4), существенно снижая влияние матрикса на взаимодействие аналитов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что все исследованные образцы содержали БС основных природных групп: 24-эпибрассинолида, брассинолида, 28-гомобрассинолида, В-лактонов и 6-кетонов (табл. 2). Из полученных данных видно, что содержание БС в образцах препаратов сильно различалось, однако сопоставимо с эндогенным уровнем в растительных объектах [23]. Очевидным является тот факт, что количественное содержание БС коррелировало с содержанием гуминовых веществ (рис. 1). Наиболее высокое суммарное содержание стероидных гормонов наблюдалось в образцах 4 (500.78 мкг/л) и 2 (324.38 мкг/л), в которых содержание гуминовых вешеств составляло 165.0 и 180.0 г/л соответственно. что является максимальным среди представленных препаратов. Для образца 1, полученного не из растительного сырья, а из отходов животноводства, с низким содержанием гуминовой кислоты (2.0 г/л) показано и минимальное содержание БС (6.239 мкг/л). Довольно высокое содержание БС также показано в образцах 5, 6 и 7 (155.34, 157.02 и 132.4 нг/мл), полученных на основе сапропелей, причем содержание гуминовых веществ составляло 76.0-80.0 г/л.

Необходимо отметить, что для всех образцов гуминовых препаратов характерно низкое содержание БС ряда брассинолида. Такой факт был отмечен и при исследовании образцов угля и торфа [22, 23]. В данном случае, вероятнее всего, содержание БС определялось непосредственно источником растительного сырья, из которого был получен тот или иной образец препарата, и способом обработки.

Интересным является тот факт, что содержание БС всех изученных групп (в меньшей мере группы 28-гомобрассинолида) в сухом сапропеле (образец 8) значительно ниже, чем в препаратах, полученных на его основе (образцы 5-7). Полученные данные могут свидетельствовать о том, что БС в сухом сапропеле содержались, в основном, в виде производных, которые при щелочной обработке в процессе получения гуминовых препаратов претерпевали гидролиз, образуя свободные БС. В пользу таких рассуждений свидетельствуют выделенные из растительных источников и охарактеризованные производные брассиностероидов, такие, например, как сульфаты [24], конъюгаты с глюкозой [25, 26], глюкозилглюкозой и глюколзилгалактозой [27], жирными кислотами [28]. Все эти соединения принято относить к метаболитам брассиностероидов [29].

Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать вывод, что изученные образцы гуминовых препаратов содержали значительное количество БС, состав и количество которых изменялся в зависимости от источника растительного сырья и способа обработки. Количество и состав БС коррелировал с содержанием гуминовых веществ (гуминовых кислот). Очевидно, что БС являются важными компонентами гуминовых препаратов и, несомненно, вносят вклад в широкий спектр физиологического действия данных агропрепаратов.

^{*24-}эпиБС – БС ряда 24-эпибрассиностероида (24-эпибрассинолид, 24-эпикастастерон, 24-эпи-6-дезоксокастатсерон);

^{**24}S-метилБС – БС ряда 24S-метилбрассиностероида (брассинолид, кастастерон, 6-дезоксокастатсерон)

^{***28-}гомоБС — 28-гомобрассиностероиды (28-гомобрассинолид и 28-гомокастастерон);

^{****}В-лактон-БС — БС ряда В-лактон-брассиностероидов (24-эпибрассинолид, брассинолид, 28-гомобрассинолид, 28-норбрассинолид и др.)
*****6-кетоБС — БС ряда 6-кетобрассиностероидов (24-эпикастастерон, кастастерон, 28-гомокастастерон, 28-норкастастерон и др.).

Работа выполнена при финансовой поддержке БР ФФИ (грант X23PHФ-087).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lucini L., Miras-Moreno B., Ertani A. Biostimulants for Sustainable Crop Production. / Ed. Y. Rouphael, P. Jardin, P Brown, S. de Pascale, G. Colla. Imprint Burleigh Dodds Science Publishing, 2020. 386 p.
- Nikbakht A., Kafi M., Babalar M., Ping Xia Y., Luo A., Etemadi N.-A. // Journal of Plant Nutrition. 2008. V. 31. № 12. P. 2155—2167.
- 3. Bezuglova O. S., Gorovtsov A. V., Polienko E. A., Zinchenko V. E., Grinko A. V., Lykhman V. A. et al. // Journal of Soils and Sediments. 2019. № 6. P. 2665–2675.
- 4. Mahdi A. H. A., Badawy Sh. A., Latef A. A. H. A., El Hosary A. A. A., Abd El Razek U. A., Taha R. S. // Agronomy. 2021. V. 11. № 3. P. 461.
- 5. Reyes-Perez J. J., Murillo-Amador B., Nieto-Garibay A., Hernández-Montiel L.G., Ruiz-Espinoza F. H., Rueda-Puente E. O. // Pak. J. Bot. 2021. V. 53. № 4. P. 1159–1165.
- Salem H. M., Abo-Setta Y., Aiad M. A., Hussein H.-A. A., El-Awady R. A. // J. Soil Sci. Agric. Eng. 2017. V. 8. № 11. P. 565–569
- Osman M. E. H., Mohsen A. A., El-Feky S. S., Mohamed W. A. // Egypt. J. Bot. 2017. P. 85–102.
- Taha S. S., Osman A. Sh. // J. Hortic. Sci. Biotechnol. 2018.
 V. 93. № 5. P. 545–554.
- 9. Mridha D., Paul I., Ray I., De A., Das A., Joardar M. et al. // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2021. V. 219. P. 112313.
- Abdelrasheed Kh. G., Mazrou Y., Omara A. E.-D., Osman H. S., Nehela Y., Hafez E. M. et al. // Plants. 2021. V. 10. P. 2598.
- 11. *Hefzy M. Mostafa H., Zahran M.* // Env. Biodiv. Soil Security. 2020. V. 4. P. 239–251.
- 12. Wang Y., Lu Y., Wang L., Song G., Ni L., Xu M. et al. // Plant Science. 2023. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1122621
- 13. *Khripach V. A.* Brassinosteroids. A New Class of Plant Hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. de Groot. San Diego: Academic Press, 1999. 456 p.
- 14. Гарецкий Р. Г., Барановский А. В., Жабинский В. Н., Литвиновская Р. П., Прядко А. Г., Савчук А. Л. и др. //

- Доклады Российской академии наук. Науки о Земле. 2021. № 2. С. 128—132.
- Pradko A. G., Litvinovskaya R. P., Sauchuk A. L., Drach S. V., Baranovsky A. V., Zhabinskii V. N. et al. // Steroids. 2015. V. 97. P. 78–86.
- 16. *Хрипач В. А., Свиридов О. В., Прядко А. Г., Литвиновская Р. П., Драч С. В., Матвеенцев В. Д. и др. //* Биоорганическая химия. 2007. Т. 33. № 3. С. 371—378.
- 17. *Хрипач В. А., Литвиновская Р. П., Драч С. В., Аверькова М. А., Жабинский В. Н., Свиридов О. В. и др. //* Доклады НАН Беларуси. 2009. Т. 53. № 6. С. 82—85.
- 18. *Хрипач В.А.*, *Литвиновская Р. П.*, *Райман М. Э.*, *Драч С. В.*, *Жабинский В. Н.*, *Свиридов О. В. и др.* // Весці НАН Беларусі, сер. хім. навук. 2008. № 3. С. 47–58.
- 19. Khripach V. A., Sviridov O. V., Pryadko A. G., Litvinovskaya R. P., Drach S. V., Matveentsev V. D. et al. // Nat. Prod. Commun. 2008, V. 3. № 5. P. 735–748.
- Kambatyrov M., Nazarbek U., Abdurazova P., Nazarbekova S., Raiymbekov Y. // Rasayan J. Chem. 2020. V. 13. № 3. P. 1308–1312.
- 21. *Гарецкий Р. Г., Грибик Я. Г., Литвиновская Р. П., Савчук А. Л., Мардосевич М. А., Хрипач В. А. //* Доклады Российской академии наук. Науки о Земле. 2020. Т. 494. № 1. С. 29—32.
- 22. Литвиновская Р. П., Савчук А. Л., Томанова М. А., Хрипач В. А. // Химия природных соединений. 2019. Т. 55. № 5. С. 847—848.
- 23. *Bajguz A.*, *Tretyn A.* // Phytochemistry. 2003. V. 62. № 7. P. 1027–1046.
- Rouleau M., Marsolais F., Richard M., Nicolle L., Voigt B. // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. P. 20925–20930.
- 25. *Soeno K., Kyokawa Y., Natsume M., Abe H.* // Biosci. Biotech. Biochem. 2000. V. 64. P. 702–709.
- Suzuki H., Kim S. K., Takahashi N., Yokota T. // Phytochem. 1993. V. 33. P. 1361–1367.
- Kolbe A., Schneider B., Porzel A., Adam G. // Phytochem. 1998. V. 48. P. 467–470.
- Asakawa S., Abe H., Nishikawa N., Natsume M., Koshioka M. // Biosci. Biotech. Biochem. 1996. V. 60. P. 1416–1420.
- Fujioka S., Yokota T. // Annu. Rev. Plant Biol. 2003. V. 54. P. 137–164.

Evaluation of the Content of Steroid Phytohormones in Humic Preparations

R. P. Litvinovskaya^{a, *}, A. L. Sauchuk^a, D. V. Denisiuk^a, D. G. Perakhod^b, R. V. Perakhod^b, and V. A. Khripach^a

^aInstitute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220084 Belarus ^bCJSC "Organic Farming Bel", Minsk, 220033 Belarus *e-mail: litvin@iboch.by

It was shown for the first time that humic preparations contain steroidal phytohormones — brassinosteroids (**BS**), the amount and composition of which vary depending on the source of raw materials and the method of its processing. It has been established that the qualitative and quantitative composition of BS correlates with the content of humic substances (humic acids). Using the example of humic preparations obtained from sapropel, it was found that alkaline treatment leads to the release of a noticeable amount of BS present in the form of conjugates. These results indicate that BS are important components of humic preparations and undoubtedly contribute to a wide range of physiological effects of these agricultural preparations.

Keywords: brassinosteroids, humic preparations, enzyme immunoassay