

УДК 550.43

СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ РАСТЕНИЙ – УНИКАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ДЕВОНСКИХ НЕФТЕЙ БЕЛАРУСИ

© 2020 г. Иностраннный член РАН Р. Г. Гарецкий¹, Я. Г. Грибик¹, Р. П. Литвиновская², А. Л. Савчук², М. А. Мардосевич², В. А. Хрипач^{2,*}

Поступило 19.05.2020 г.

После доработки 20.05.2020 г.

Принято к публикации 25.06.2020 г.

Приводятся данные по изучению содержания стероидных гормонов растений (брасиностероидов) в образцах нефти ряда месторождений Беларуси. Содержание стероидных гормонов растений в образцах нефти измерялось методом иммуноферментного анализа. В составе ископаемого сырья впервые обнаружены брасиностероиды ряда брасинолида, 24-эпибрасинолида и 28-гомобрасинолида. Количество содержащихся в нефти брасиностероидов варьирует в пределах от 0.87 до 8.82 нг/г, что сопоставимо с содержанием их в растительных объектах.

Ключевые слова: брасиностероиды, иммуноферментный анализ, нефть

DOI: 10.31857/S2686739720090078

Исследования нефтяных составляющих и вызываемые ими эффекты показали, что небольшие количества нефти, попадая в почву, не только не вредят растениям, но могут даже стимулировать их рост [1]. В ходе изучения способности почвы к самовосстановлению при загрязнении ее нефтью было найдено, что добавка нефти до 0,06% для клоповника безлепестного (*Lepidium ruderale* L.) и 0.16% для полыни чернобыльника (*Artemisia vulgaris* L.) оказывает стимулирующий эффект на рост растений [2]. Наиболее изученными составляющими нефти являются в настоящее время нефтяные кислоты (алифатические, нафтеновые, ароматические) и их производные [3]. В середине прошлого века было запатентовано ростовое вещество (40%-ный водный раствор натриевых солей нефтяных кислот, выделенных из керосинов и дизельных топлив) [4]. Было показано, что нефтяное ростовое вещество оказывает заметное положительное влияние на рост, развитие и приживаемость семян древесных пород и других растений [5].

Современные методы идентификации органических соединений позволяют более точно определять составляющие нефтяных образцов, которые присутствуют в очень низких концентрациях,

но способны проявлять высокую физиологическую активность, в том числе фиторостостимулирующую. К последним относятся брасиностероиды (БС) – гормоны растений, присущие всему растительному миру [6, 7]. Если принять во внимание, что в составе горных пород, вмещающих нефть, содержатся растительные остатки, то можно предположить, что нефть также может содержать свойственные растительным организмам гормоны стероидной структуры.

Настоящее исследование посвящено проверке этой гипотезы с помощью аналитического метода, разработанного нами ранее специально для этой группы растительных гормонов [8, 9]. В результате нам удалось найти и измерить содержание указанных гормонов во всех изученных образцах нефти и это, насколько нам известно, является первым случаем обнаружения подобных сложных биологически значимых молекул в составе ископаемого сырья.

Исследовано 6 проб нефти из 5 месторождений, расположенных в единственном в Беларуси Припятском нефтеносном бассейне. В геологическом плане Припятский нефтеносный бассейн представляет собой палеорифтовую структуру, сформировавшуюся на герцинском этапе геологического развития региона в абсолютном временном периоде 375–350 млн лет тому назад. Установленные залежи нефти находятся в породах осадочного чехла мощностью до 6.0–6.5 км, представленного преимущественно девонскими отложениями палеозойской эры, в разрезе которых выделяются подсолевой (терригенный и кар-

¹ Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

² Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*E-mail: khripach@iboch.by

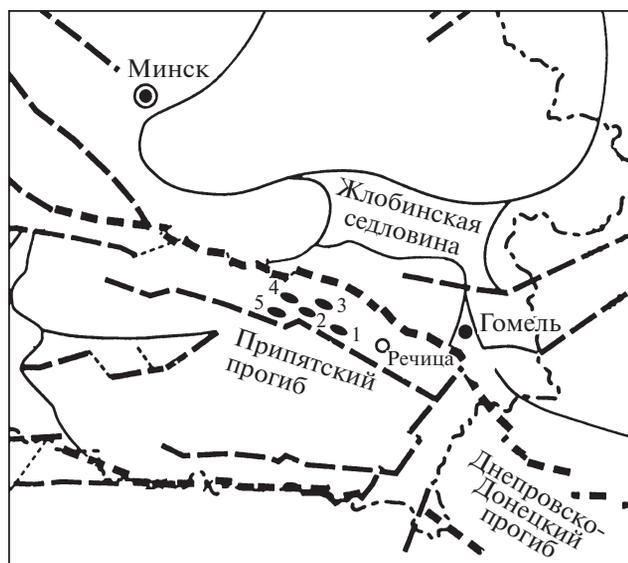


Рис. 1. Схема размещения исследуемых нефтяных месторождений Беларуси. Обозначения месторождений: 1 – Зуевское, 2 – Ново-Сосновское, 3 – Морозовское, 4 – Давыдовское, 5 – Ново-Кореневское.

бонатный), нижнесоленосный, межсолевой, верхнесоленосный и надсолевой комплексы. Залежи нефти, из которых отобраны и проанализированы пробы, расположены в Северной части Припятского прогиба в Светлогорском и Калинковичском районах Гомельской области (рис. 1). Анализируемые пробы нефти распределяются

следующим образом по разрезу – снизу-вверх. Из подсолевого карбонатного комплекса проанализировано три пробы Зуевского (семилуцкий и саргаевский горизонты) и Ново-Сосновского (семилуцкий горизонт) месторождений (табл. 1).

Нефть межсолевой залежи (задонский горизонт) изучена по двум пробам на Давыдовском и Ново-Кореневском месторождениях, а верхнесоленосного комплекса по одной пробе (боричевский горизонт) из Морозовского месторождения. Следует отметить, что все проанализированные пробы представляют залежи, приуроченные к карбонатным породам, которые представлены преимущественно доломитами, известняками, мергелями с пластами ангидрита, солей. Большая часть емкостного пространства, содержащего пластовые флюиды (нефть, пластовые воды рассольного типа), сформирована как органогенные постройки преимущественно биостромного типа, породообразующими элементами емкостного пространства которых являлись сине-зеленые водоросли (строматолиты), кораллы, брахиоподы, моллюски, криноидеи [10].

В качестве метода исследования образцов применяли иммуноферментный анализ, при этом поиск вели в наиболее распространенных группах фитогормональных стероидов – ряда 24-эпибрассинолида, брассинолида и 28-гомобрассинолида. Образец нефти (3 мл) порционно распределяли между циклогексаном (9 мл) и 80%-ным водным метанолом (3 × 6 мл). Объединенную водно-метанольную фракцию упаривали до водного остатка. Далее водный остаток порционно распределяли

Таблица 1. Характеристика нефти и вмещающих пород Припятского прогиба

№№ п/п	Месторождение, скважина	Глубина, м	Горизонт	Вмещающие породы	Пластовые		Плотность нефти, г/см ³
					Давление, МПа	Температура, °С	
1	Зуевское, 603	3564–3590	семилуцкий	Доломит серый мелкокристаллический, пористый с выпотами нефти	40.8	75	0.8384
2	Зуевское, 603	3599–3606	саргаевский	Доломит темно-серый тонкокристаллический, пористый с выпотами нефти	41.4	79	0.8437
3	Ново-Кореневское, 12	2725–2733	задонский	Доломит темно-серый тонкокристаллический, трещиноватый	30.6	52	0.8665
4	Ново-Сосновское, 48	3254–3271	семилуцкий	Доломит серый, кристаллический, массивный, кавернозный	39.0	71	0.8039
5	Давыдовское, 83	2648–2670	задонский	Известняк серый, слабглинистый, доломитизированный	27.5	58	0.857
6	Морозовское, 1	2760–2766	боричевский	Известняк массивный, ангидрит серый чешуйчатый	28.5	61	0.8398

Таблица 2. Содержание brassinosterоидов в образцах нефти (нг/г)

№	Образцы нефти	БС ряда 24-эпи- брассинолида	БС ряда брассинолида	БС ряда 28-гомо- брассинолида
1	Зуевское месторождение, скв. № 603, 3564–3590 м	0.575 ± 0.052	0.164 ± 0.015	0.139 ± 0.018
2	Зуевское месторождение, скв. № 603, 3599–3606 м	0.935 ± 0.072	0.218 ± 0.024	0.119 ± 0.011
3	Ново-Кореневское месторождение	0.738 ± 0.024	0.222 ± 0.004	0.228 ± 0.015
4	Ново-Сосновское месторождение	0.555 ± 0.057	0.406 ± 0.096	0.165 ± 0.012
5	Давыдовское месторождение	2.67 ± 0.32	0.280 ± 0.039	0.295 ± 0.005
6	Морозовское месторождение	8.07 ± 1.37	0.335 ± 0.005	0.359 ± 0.029

между этилацетатом (9 мл) и 0.25 М Na₂HPO₄ (3 мл × 3). Органическую фракцию промывали дистиллированной водой до нейтрального pH и упаривали досуха. Полученный остаток растворяли в небольшом количестве буферного раствора (2 мл). Буферный экстракт центрифугировали на приборе Eppendorf® MiniSpinPlus (13 375 об/мин) в течение 5 мин, супернатант разводили в 10 раз. Количественное определение содержания стероидных гормонов растений в образцах нефти проводили с помощью разработанного нами двухстадийного иммуноферментного метода анализа [9] с использованием тест-систем по определению brassinosterоидов ряда 24-эпибрассинолида, брассинолида и 28-гомобрассинолида.

Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора с известной концентрацией (10⁻⁴ моль/л) brassinosterоида буферным раствором. Концентрация стероида в калибровочных пробах составляла 0, 0.01, 0.1 и 1.0 нмоль/л. Раствор ферментативного конъюгата brassinosterоид-пероксидаза хрена 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 вносили по 150 мкл калибровочных проб и анализируемых образцов в дубликатах. Концентрация стероида в калибровочных пробах составляла 0; 0.01; 0.1; 1 нмоль/л. Планшет инкубировали при 37°C в течение 2 ч, после чего содержимое лунок удаляли и промывали их промывочным раствором (4 × 150 мкл). Затем во все промытые лунки добавляли по 150 мкл раствора конъюгата соответствующего brassinosterоида с ПХ и инкубировали 5 мин при 37°C. Затем удаляли содержимое, промывали, как описано выше, добавляли по 150 мкл хромоген-субстратной смеси и инкубировали при 37°C в течение 20–25 мин. Останавливали реакцию добавле-

нием во все лунки по 50 мкл раствора стоп-реагента (5%-ного раствора H₂SO₄). Оптическую плотность раствора во всех лунках измеряли на фотометре универсальном Ф300ТП (РУПП “Витязь”, Беларусь) при длине волны 450 нм. Методом интерполяции по калибровочному графику рассчитывали концентрацию БС (нмоль/л) в анализируемой пробе. Полученные данные приведены в табл. 2.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что все изученные образцы нефти содержат стероидные гормоны растений основных известных в настоящее время групп – брассинолида, 24-эпибрассинолида и 28-гомобрассинолида. При этом наиболее распространенными являются фитогормоны ряда 24-эпибрассинолида (максимальное содержание их отмечено в нефти верхнесоленосного комплекса Морозовского месторождения – 8.07 нг/г). Суммарное количество содержащихся в нефти brassinosterоидов варьирует в пределах от 0.87 до 8.82 нг/г. На состав brassinosterоидов слабо влияют месторасположение в разрезе и глубина залегания горизонта. Однако количественное содержание brassinosterоидов сопоставимо с таковым в растительных объектах [11–14], в том числе в лекарственных травах [15]. Очевидно, это можно объяснить высокой устойчивостью изучаемых объектов к трансформациям под воздействием геологических факторов, участвующих в процессах формирования горных пород и залежей полезных ископаемых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Русанова Г.В. Деградация криогенных почв в районах нефтегазоразведочных работ // Почвоведение. 2000. № 2. С. 252–261.
2. Лифшиц С.Х., Кершенгольц Б.М., Чалая О.Н. и др. Изучение способности модельной системы “мерзлотная почва Якутии — растения» к восстановлению при загрязнении нефтью // Химия в интересах устойчивого развития. 2008. № 5. С. 537–545.

3. Иванова Л.В., Кошелев В.Н., Соколова Н.А. и др. Нефтяные кислоты и их производные. получение и применение // Труды Российского государственного университета нефти и газа. 2013. № 1. С. 68–80.
4. А.с. № 447910 (СССР). МКИ С 07 С 61/00. Способ получения нефтяного ростового вещества. Подано 25.10.72. Опубликовано 30.04.86. Бюл. № 16. Приоритет 1972.
5. Гусейнов Д.М. Применение новых видов удобрений. Москва: Сельхозиздат, 1961.
6. Brassinosteroids: Chemistry. Bioactivity // Horace G.C., Yokota T., Adam G. (editors). Application. Washington: ACS; 1991.
7. Nolan T.M., Vukašinić N., Liu D., Russinova E., Yin Y. Brassinosteroids: Multidimensional Regulators of Plant Growth, Development, and Stress Responses // The Plant Cell. 2000. V. 32. P. 236–318.
8. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Litvinovskaya R.P. Immunoassays of Brassinosteroids // In Hayat S., Ahmad A. (editors). Brassinosteroids: A Class of Plant Hormones. Dordrecht: Springer Science & Business Media; 2011. P. 375–392.
9. Pradko A.G., Litvinovskaya R.P., Sauchuk A.L., et al. A New ELISA for Quantification of Brassinosteroids in Plants // Steroids. 2015. V. 97. P. 78–86.
10. Махнач А.С., Москвич В.А., Кручек С.А., Урьев И.И. Органогенные постройки девона Белоруссии. Минск: Наука и техника; 1984. 236 с.
11. Kanwar M., Bajguz A., Zhou J., et al. Analysis of Brassinosteroids in Plants // J. Plant Growth Regul. 2017. V. 36. P. 1002–1030. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9732-4>
12. Bajguz A., Tretyn A. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants // Phytochemistry. 2003. Vol. 62(7). P. 1027–1046. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(02\)00656-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(02)00656-8)
13. Ding J., Mao L.J., Wang S.T., et al. Determination of Endogenous Brassinosteroids in Plant Tissues Using Solid-phase Extraction with Double Layered Cartridge Followed by High-performance Liquid Chromatography-tandem Mass spectrometry // Phytochem. Anal. 2013. V. 24. P. 386–394.
14. Swaczynova J., Novák O., Hauserová E., et al. New Techniques for the Estimation of Naturally Occurring Brassinosteroids // J. Plant Growth Regul. 2007 V. 26. P. 1–14 <https://doi.org/10.1007/s00344-006-0045-2>
15. Литвиновская Р.П., Савчук А.Л., Томанова М.А. и др. Содержание стероидных фитогормонов в некоторых лекарственных сборах // Химия природных соединений. 2019. Т. 55. № 5. С. 847–848.

PLANT STEROID HORMONES – UNIQUE COMPONENTS OF BELARUS DEVONIAN OILS

Foreign Member of the RAS R. G. Garetsky^a, Y. G. Gribik^a, R. P. Litvinovskaya^b,
A. L. Sauchuk^b, M. A. Mardasevich^b, and V. A. Khripach^{b, #}

^a Institute for Environmental Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic Belarus'

^b Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic Belarus'

[#]E-mail: khripach@iboch.by

The data on the study of the content of plant steroid hormones (brassinosteroids) in oil samples of a number of fields in Belarus are presented. The content of plant steroid hormones in oil samples was measured by enzyme immunoassay. In the composition of fossil raw materials brassinosteroids of three major nature groups (brassinolide, 24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide groups) were discovered for the first time. The amount of brassinosteroids contained in the oil varies from 0.87 to 8.82 ng/g, which is comparable with their content in plant objects.

Keywords: brassinosteroids, enzyme immunoassay, oil