

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ЗЛАКОВ НА ФОНЕ ЗАСОЛЕНИЯ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО РЕГУЛЯЦИИ

С. Н. Кабузенко

Проблема влияния засоления почв на рост и урожайность культурных растений становится все более актуальной в связи с ухудшением в последние годы экологической обстановки в регионе.

Опыты, проведенные в полевых и лабораторных условиях /Лакиза, Ефимов, 1978; Петров-Спиридонов, Ионева, 1987; Кабузенко и др., 1987/ показали, что растения наиболее чувствительны к действию засоления на ранних этапах онтогенеза, и урожай злаковых культур на засолении в наибольшей степени коррелирует с полевой всхожестью семян.

Нами было исследовано влияние различных концентраций засоления на отдельные физиологические параметры прорастания семян злаковых культур и возможности его регуляции с помощью экзогенных фитогормонов и лазерного облучения в указанных условиях.

Объектами исследования были злаковые культуры: кукуруза, сорт Одесская 10, пшеница Безостая 1, ячмень Мираж. Семена после предварительной стерилизации их поверхности проращивали на фильтровальной бумаге, смоченной отстоянной водопроводной водой /контроль/, 0,1 раствором хлорида натрия и раствором, содержащим соль в указанной концентрации + фитогормоны /6-БАП, 1-10 мкг/л гибберелловая кислота 5-10 мг/л/.

Температура проращивания 26 С, относительная влажность воздуха 80%.

При изучении действия лазерного облучения на процесс прорастания семян производили предварительную обработку сухих семян ИК-лазером в режиме 0,5; 1; 3; 5; 20; 40; 60; 90 минут с последующим проращиванием на отстоянной водопроводной воде /контроль/ и растворе хлорида натрия в концентрации 0,3% по хлору.

В соответствии с современными представлениями, процесс прорастания семян включает несколько физиологических этапов: 1-физическая фаза /процесс гидратации молекулярных и надмолекулярных структур семян/, 2-лаг-период /активация ферментов, участвующих в утилизации запасных питательных веществ без видимых ростовых процессов/, 3-активация деятельности зародыша, включающая наклеивание и прорастание семян.

Как показали исследования В.В.Полевого с соавт./1990/, у однодольных растений существенная роль на втором и третьем этапах прорастания принадлежит экзогенным фитогормонам, а на первом этапе пусковым механизмом является только потенциал воды, поступающей в семена.

Поэтому скорость процесса набухания во многом определяет интенсивность прорастания семян.

Нами было определено влияние засоления и экзогенных фитогормонов на динамику изменения сырого веса семян культур, отличающихся по солеустойчивости: ячменя, пшеницы, кукурузы.

Как показывают данные рисунка 1, в первые часы набухания достоверной разницы в поглощении воды между семенами отдельных вариантов не наблюдалось. Это позволяет высказать предположение о том, что на протяжении первой "физической" фазы ни засоление, ни фитогормоны не оказывают существенного влияния на процесс набухания семян. У ячменя и пшеницы наблюдалось значительное увеличение скорости поглощения воды в вариантах с фитогормонами в интервале 4-12 часов набухания, что мы связываем с повышением ферменталь-

ной активности и осмотического потенциала клеток эндосперма, щитка и зародыша, а также с аттрагирующим действием экзогенных биостимуляторов, поступающих в клетки.

Поглощение воды на фоне засоления у ячменя больше активировалось экзогенным цитокином, а у пшеницы — гибберелловой кислотой, что мы объясняем различной чувствительностью рецепторов в условиях опыта.

У пшеницы и кукурузы стимулирующее действие фитогормонов на фоне засоления появилось позднее, чем у семян ячменя.

Основываясь на представлениях, изложенных в литературе, мы предполагаем, что "физическая" фаза прорастания семян продолжается до начала участия фитогормонов в превращении запасных питательных веществ семени /Обручева, 1991/. Начало гидролиза запасных веществ в осевых органах начинает обеспечивать их фондом осмотически активных веществ, в результате чего семя поглощает новые порции воды и активирует новые ферменты. По мнению Н.В.Обручевой, уровень гидратации белков семян обуславливает последовательную активацию ферментных систем, катализирующих физиологические процессы прорастания.

Нами проведено изучение влияния засоления и экзогенных фитогормонов на активность ключевого фермента, участвующего в превращении запасных питательных веществ семени, — амилазы — в прорастающих семенах пшеницы и кукурузы /таблицы 1,2/.

Таблица 1.

Суммарная активность α и β - амилазы в прорастающих семенах пшеницы Безостая 1 через 72 часа от начала проращивания.

Варианты опыта	активность амилазы /в мг гидролизованного крахмала за 1 час/мл ферментной вытяжки/		
	в тканях эндосперм.	в зародыше	в % к контр.
Контроль H ₂ O	56,34±0,45	12,82±0,42	100
NaCl 0,2%	50,26±0,01	1,42±0,0	11,1
NaCl +ГК 10 мг/л	63,09±0,04	6,47±0,18	50,4
NaCl +ЦТК 5 мкг/л	56,92±0,36	9,87±0,11	76,5

Примечание: здесь и в последующем тексте ГК - гибберелловая кислота, ЦТК - цитокинин /6-БАП/

Как видно из данных таблиц 1, 2, для обеих культур /пшеницы и кукурузы/ прослеживается определенная закономерность. Засоление практически не ингибирует активность амилазы в тканях эндосперма, а у кукурузы она даже несколько повышена относительно контроля. Солевой фон оказывает весьма существенное ингибирующее влияние на активность фермента в тканях зародыша /у кукурузы - только в тканях корешка/, где активность амилазы ниже более чем в 5 раз против контроля.

Таблица 2

Суммарная активность α и β - амилазы в прорастающих семенах кукурузы через 72 часа от начала проращивания

Варианты опыта	активность амилазы /в мг гидролизованного крахмала за 1 час /мл ферментной вытяжки/		
	в эндосперме	в корешках	в coleoptilyakh
Контроль /вода/	20,6±0,3	4,7±0,01	9,3±0,1
NaCl 0,1н.	28,4±0,2	0,9±0,01	14,8±0,1
6-БАП 5 мкг/л	26,3±0,1	20,6±0,3	18,7±0,1
NaCl+ГК 10 мг/л	55,7±0,5	25,3±0,1	29,0±0,1
NaCl+6-БАП 5 мкг/л	22,1±0,1	4,2±0,06	16,3±0,1

Как видно из данных таблиц 1, 2, экзогенная гибберелловая кислота стимулирует активность фермента на фоне засоления и в эндосперме, и в тканях зародыша /в последнем - более чем в 3 раза/.

Экзогенный цитокинин на засолении в 6,9 раз стимулирует активность амилазы в тканях зародыша пшеницы и более чем в 4 раза - в корешках кукурузы.

Известно, что цитокинин и гибберелин в связанной форме находятся в эндосперме, а в свободной - в тканях щитка и зародыша /Полевой и др.,1990/. Показано, что основное снабжение цитокинином надземных органов осуществляют корни, в которых синтезируется природный цитокинин - зеатин /у кукурузы/ и его производные.

Влияние экзогенного цитокина распространяется на различные стороны обмена веществ, и в особенности на синтез белка /Кулаева, 1985/.

Мы предполагаем, что солевой фон существенно ингибирует синтез белка в корневых клетках проростков, одной из возможных причин этого может являться недостаток цитокининов, синтезируемых *de novo* в корешке. Это подтверждается приближением к контролю значений активности амилазы в варианте NaCl+6-БАП, а также данные о влиянии засоления и фитогормонов на содержание белка в корневых окончаниях четырехдневных проростков злаковых культур /таблица 3/.

Таблица 3
Содержание белка в корнях четырехдневных проростков злаковых культур /мг * г сырого вещества/

Вариант опыта	Кукуруза Одесская10	Ячмень Мираж
Контроль H ₂ O	5,74 +- 0,24	6,73 +- 0,05
ЦТК 1мкг/л	8,35 +- 0,16	7,13 +- 0,10
NaCl 0,4%	3,52 +- 0,19	3,71 +- 0,07
NaCl + ЦТК	4,49 +- 0,13	4,67 +- 0,39
Na ₂ SO ₄ 0,2%	4,39 +- 0,06	4,79 +- 0,10
Na ₂ SO ₄ + ЦТК	4,87 +- 0,15	4,81 +- 0,13

Как показывают данные таблицы 3, на фоне засоления происходит достоверное снижение содержания белка в корнях проростков, причем в большей степени на хлоридном засолении /в 1,6-1,8 раз против контроля/. Применение экзогенного цитокина приближает значение показателя на засолении к контролю. Наиболее вероятным механизмом действия мы считаем влияние фитогормона на аппарат синтеза белка.

В соответствии с данными литературы, цитокинины экспрессируют геном различными путями: стимулируют матричную активность хроматина и ядерных РНК-полимераз /Романов,1989/; оказывают влияние на фосфорилирование ядерных белков /Заякин и др./; подавляют репликативное метилирование цитозинового остатков /Ванюшин, Кирносб,1992/; синхронизируют и уменьшают продолжительность репликации хромосомной ДНК; оказывают влияние на структурную организацию хроматина, усиливая связь части ДНК с прочно связанными белками ядерного матрикса /Сьякте и др.,1993/.

Все перечисленные параметры активирующего влияния цитокина на состояние генома и его репликативную деятельность проявляются в первой фазе клеточного роста - делении, усиливая митотическую активность, что и было показано нами для злаковых культур в вариантах с засолением /данные представлены в таблице 4/.

Таблица 4
Изменение митотического индекса меристемы корней четырехдневных проростков кукурузы сорта Одесская 10 при действии засоления и фитогормонов/в % к контролю/.

Контроль/вода/	NaCl 0.4%	NaCl+ГК	NaCl+ЦТК	ЦТК/6-БАП/	ГК
100.0	32.0	60.7	123.6	100.0	97.6

Как следует из данных таблицы 4, экзогенные фитогормоны - гибберелловая кислота и аналог цитокинина 6-БАП - различно действовали на митотическую активность корневой меристемы кукурузы. Стимулирующий эффект на фоне засоления наблюдался только под действием цитокинина - 6-БАП. Это подтверждает нашу гипотезу о подавлении ростовых процессов проростков на засолении вследствие ингибирования синтеза цитокининов.

В настоящее время считается доказанным, что первым этапом активации ростовой деятельности зародыша семени является процесс проклевывания семян, включающий и деление, и растяжение клеток. По данным Л.Д. Авиловой и др. /1986/ для семян ячменя, прорастающих на засолении, характерна гетерогенность реакции меристематических клеток на действие фактора и асинхронность их участия в митотическом цикле. По мнению этих авторов, клеточное деление более чувствительно к засолению, чем растяжение.

Последнее согласуется с нашими данными, свидетельствующими о стимуляции засолени-ем активности фермента Н-АТФ-азы в корнях проростков кукурузы и ячменя и о повышении ацидофицирующей активности корней проростков, а также интактных семян этих культур. 'Кислый' рост клеточных стенок в фазе растяжения обусловлен деятельностью протонных помп /Полевой, 1982/. При совместном действии засоления и цитокинина, как показали наши исследования, активность Н-АТФ-азы и ацидофицирующая способность у наиболее солеустойчивого злака - ячменя - возрастает в большей степени, чем у кукурузы.

Полученные нами данные о положительном влиянии цитокинина подобного вещества - 6-БАП - на физиологические параметры прорастания семян в условиях засоления подтверждаются результатами морфометрических исследований /таблица 5/.{F10}

Таблица 5
Морфометрические показатели роста 4-дневных проростков кукурузы сорта Одесская 10

Вариант опыта	Длина гл.корня, мм	Длина coleoptily, мм	Число бок.корней, шт.
контроль H ₂ O	23,9±1,5	6,8±0,5	1,35±0,1
NaCl 0,1н	17,0±1,0	5,2±0,8	0,80±0,02
ЦТК 10 мг/л	37,2±2,6	9,1±1,0	3,12±0,2
NaCl + ЦТК	22,0±1,2	5,9±0,6	2,68±0,1

Как следует из данных таблицы, под влиянием хлоридного засоления произошло уменьшение длины главного корня - в 1,4 раза, числа боковых корней - в 1,68 раз и длины coleoptily - в 1,3 раза. Применение экзогенного цитокинина способствовало улучшению показателей ростовой активности на пресном и засоленном фоне.

Таким образом, одним из приемов, способствующих стимуляции прорастания семян злаковых культур на засолении может стать предварительная обработка семян экзогенными фитогормонами: 6-БАП /5-10 мг/л/, смесью 6-бензиламиннопурина с гибберелловой кислотой.

Параллельно с изучением действия фитогормонов мы провели исследование влияния на митотическую активность и другие показатели роста пшеницы Безостая 1 инфракрасного лазерного облучения с последующим проращиванием на 0,3% растворе хлорида натрия /опыт/ и воде /контроль/: Для облучения была использована инфракрасная лазерная установка для обработки семян "Урожай".

Как видно из данных рисунка 2, различные режимы обработки инфракрасным лазером оказали положительное влияние на митотическую активность клеток корневой меристемы пшеницы. Лучший эффект на засолении получен при режиме облучения 5 и 90 минут. В этих же режимах отмечено положительное влияние облучения на накопление сухой и сырой биомассы

проростков /преимущественно надземной части/, максимальное увеличение которой по сравнению с контролем составило 25%.

Таким образом, на основании данных экспериментов мы можем заключить, что ингибирующее влияние засоления на прорастание семян и начальный рост проростков может быть частично устранено посредством применения экзогенных регуляторов роста и ИК-лазерного облучения /предварительная обработка семян/.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Авилова Л.Д., Ляхова Н.Ф., Чабанная О.Ф. Цитофизиологическое состояние корневой меристемы прорастающих в условиях засоления семян ячменя // Тезисы докладов IV Всесоюзного симпозиума по солеустойчивости растений. - Ташкент: ФАН. - 1986.- с. 94.
2. Ванюшин Б.Ф., Кирнос М.Д., Александрюшкина Н.И. Метилирование ДНК - регуляция транскрипции //Тезисы докладов II Съезда ВОФР. М: 1992. - с. 18.
3. Заякин В.В., Нам И.Я., Кулаева О.Н. Влияние цитокинина на протеинкиназную активность, ассоциированную с РНК-полимеразой в семядолях люпина //Физиология растений, 1989, т.36 вып.1.-с.11
4. Кабузенко С.Н., Блохин В.Г., Копылов Н.И. Влияние биологически активных веществ на прорастание семян и рост культурных растений на фоне засоления //В сб.: Регуляторы роста растений. -Л: ВНИИР, 1989. с. 79-82
5. Кулаева О.Н. Фитогормоны как регуляторы активности генетического аппарата и синтеза белка у растений //В кн.: Новые направления в физиологии растений. - М : Наука, 1985.-с.62-81//
6. Лакиза Р.И., Ефимов И.Т. Влияние запасов влаги и засоленности почвы на всхожесть семян кукурузы //Почвоведение.-1978, N7.-с.162-167.//
7. Петров-Спирidonov Е.А., Ионева Ж.З. Ионный обмен у растений в условиях хлоридного засоления // Изв. ТСХА.-1987, вып.2.-с. 86-94 //
8. Полевой В.В. Фитогормоны.-Л: Изв. ЛГУ.-1982.с.249.
9. Полевой В.В., Шипарев С.М., Москалева О.В. Гормональная регуляция прорастания семян //В сб. : Физиология семян.-1990.-Душанбе : Дониш.-с.119-123//
10. Романов Г.А. Гормоновызывающие белки растений и проблема рецепции фитогормонов // Физиология растений.-1989.-Т.36 N1 с. 166 //
11. Обручева Н.В. Физиология начальных этапов прорастания семян двудольных растений //Диссерт. на соискание ученой степени доктора биологических наук.- М, 1991.-с.340//
12. Ananiev E.D., Karagyzov L.K., Karanov E.N. Effect of Cytocinins on Ribosomal RNA Gene Expression in Excised Cotyledons of Cucurbita pepo L.// Planta. 1987. v.170. N3. p. 370//
13. Jacmard A., Houssa C. Activation of Replicon Origin by Cytocinins in the Shoot Meristem //j.Exp.Bot.Suppl.1990 v. 41. p. 1//3