

УДК 581.632.577

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ И ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА

Жижина М.Н, Кабузенко С.Н.

Засоление, как стрессовый фактор оказывает негативное действие на рост корневой системы культурных растений [1 - 3]. Известно, что длительное повышенное содержание ионов в почве оказывает негативное влияние на многие физиологические процессы растений, вызывая при этом анатомические изменения в растительных тканях и органах [2, 4].

Отрицательное действие высокой концентрации солей сказывается раньше всего на корневой системе растений [5]. Исследования [4] показали, что корни более чувствительны к засолению, чем надземные органы. Однако известны и факты положительного влияния засоления субстрата на накопление массы корней при замедленном росте побегов [6].

В то же время исследования поглощающей функции корней показали, что при засолении уменьшается их общая и рабочая адсорбирующая поверхность. Однако при этом возрастает отношение рабочей поглощающей поверхности к недействительной [4].

Формирование целостной корневой системы растений на фоне засоления изучено недостаточно и на ограниченном числе культур. К тому же полученные данные носят противоречивый характер. В частности, у ячменя установлено уменьшение количества боковых корней и их длины, общего числа корневых волосков, тогда как у проростков огурцов и пшеницы в ответ на угнетение главного корня увеличивались число придаточных корней и их суммарная длина при значительном снижении сухой массы [6, 7].

В последние годы убедительно показано, что для стимуляции ростовых процессов на клеточном уровне в условиях засоления можно использовать различные регуляторы роста (6-БАП, фузикоцин, ивин и др.) [1, 5, 8 - 10].

По данным сотрудников кафедры физиологии растений Таврического национального университета, обработка препаратом 6-БАП на фоне засоления субстрата положительно влияет на митотическую активность меристемы кончиков корней проростков кукурузы и пшеницы. Наличие цитокинина в среде может способствовать снятию ингибирующего влияния засоляющих ионов на прохождения интерфазы и метафазы митоза в меристеме корней злаков [8].

Предобработка семян фузикоцином снижает токсическое действие солей, что основано на повышении оводненности семян под влиянием препарата,

способствующей ранней активации метаболических процессов и на значительном накоплении клеток в G₁- фазе, увеличении длины и массы корней растений сорго [9].

Однако, механизмы влияния БАВ на ход митотических процессов довольно сложны и разнообразны, и остаются слабо изученными.

Ранее нами было показано позитивное влияние препаратов 6-БАП и ивина на рост растений в условиях засоления на уровне целостного организма [5].

Известно, что в основе активации процессов роста растительного организма на органном уровне лежит стимуляция процессов клеточного роста, составной частью которой является митотическая активность меристемы.

Целью данной работы явилось изучение влияния стимуляторов роста - ивина и 6-БАП на изменение митотической активности корневой меристемы растений кукурузы и ячменя в условиях солевого стресса. Выбор объектов исследования обусловлен различной степенью солеустойчивости, которая значительно отмечается у ячменя (высокосолеустойчив) и кукурузы (устойчивость средней степени).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили семена и корневая меристема проростков растений кукурузы сорта Одесская 10 и ячменя сорта Сталкер. Семена замачивали на сутки в воде (контроль 1), 0,1 н растворе хлорида натрия (контроль 2) и регуляторов роста: 6 - БАП (5 мкг/ л) и ивина ($5 \cdot 10^2$ мкг/л) на солевом фоне. Затем кюветы накрывали стеклом и помещали в термостат ($t = 25^\circ\text{C}$, темнота, влажность 80%). Определяли процент всхожести семян в динамике в течение 4 суток (путем подсчета количества проросших семян на вторые, третьи, четвертые сутки), которые выражали в % к общему числу семян данной повторности). Затем по 100 семян раскладывали в чашки Петри на фильтровальную бумагу с добавлением растворов, указанных выше. Чашки Петри помещали в термостат ($t = 25^\circ\text{C}$, темнота, влажность 80%), где они находились в течение 3 суток. Материал фиксировали фиксатором Бродского, ФСУ в соотношении (3:1:0,3). Продолжительность фиксации 1-1,5 часа. Производилась мацерация объектов соляной кислотой (10%) на 10-15 мин, $t = 60-70^\circ\text{C}$. Корешки окрашивали ацетокармином [11].

Биологическая повторность опыта - десятикратная, аналитическая - трехкратная. Данные обработаны статистически [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты наглядно показали негативное действие засоления на рост проростков кукурузы и ячменя в условиях опыта с момента начала развития. Как показывает анализ рис. 1 и 2, химический состав субстрата оказывает существенное влияние на динамику наклёвывания семян. Прорастанию семян предшествует состояние наклевывания, которое проявляется в том, что кончик зародышевого корешка «пробивает» семенную оболочку, после чего происходит активация митотической деятельности зародышевой меристемы.

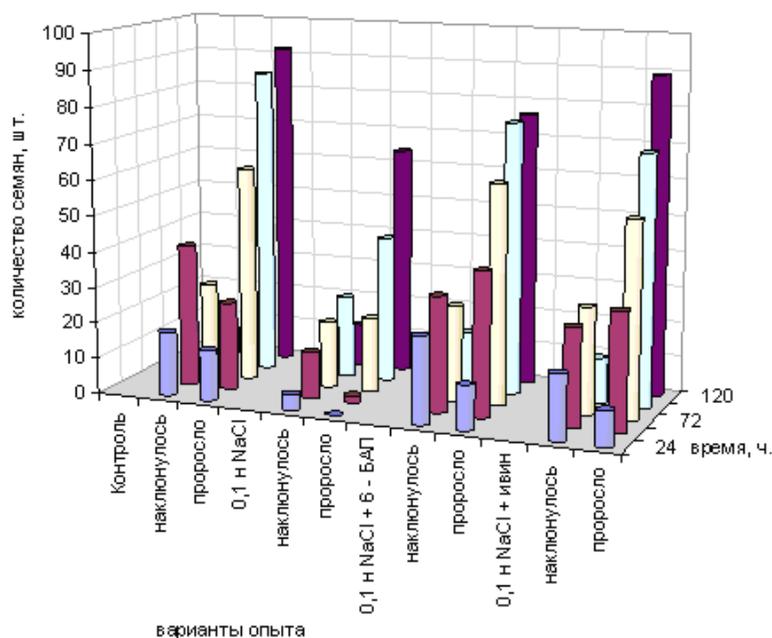


Рис. 1 Динамика наклёвывания и прорастания семян кукурузы сорт Одесская 10 под влиянием экзогенных регуляторов роста и хлоридного засоления (в %)

Из данных рис. 1. видно, что к концу вторых суток в контроле наклюнулось 40% и проросло 24,7%, а варианте с 0,1 н раствором NaCl соответственно 13,1% и 2,0%. Процесс набухания семян является подготовительным этапом для активации зародыша, тем не менее, здесь мы должны различать два самостоятельных процесса, по мнению многих исследователей, токсическое воздействие вредных веществ проявляется только с началом деятельности зародыша [13].

Через 48 часов от начала проращивания в контроле 1 наклюнулось 21,3%, проросло 56%, а на засоленном фоне соответственно 13,7% и 16,4%.

Наши исследования показали, что на процесс прорастания кукурузы и ячменя препарат 6-БАП оказал более существенное влияние, чем биостимулятор ивин. Полученные данные (рис. 1, 2) свидетельствуют о стимулирующем эффекте препарата 6-БАП на прорастание семян кукурузы (45,2%) и ячменя (47,6%). Показано, что наличие цитокининов в среде может способствовать снятию ингибирующего влияния засоряющих ионов в меристеме корней злаков [5].

Ивин в меньшей степени повлиял на динамику наклёвывания и прорастания семян. Через 48 часов от начала проращивания в варианте с ивином на солевом фоне наклюнулось 27,3%, проросло 32,7% семян кукурузы (рис. 1). Для ячменя соответственно наклюнулось 37,8%, проросло 35,8% семян (рис.2).

В основе влияния факторов среды (температуры, влажности, света) на ростовые процессы лежит изменение скорости прохождения клетками меристем отдельных фаз клеточного цикла [14].

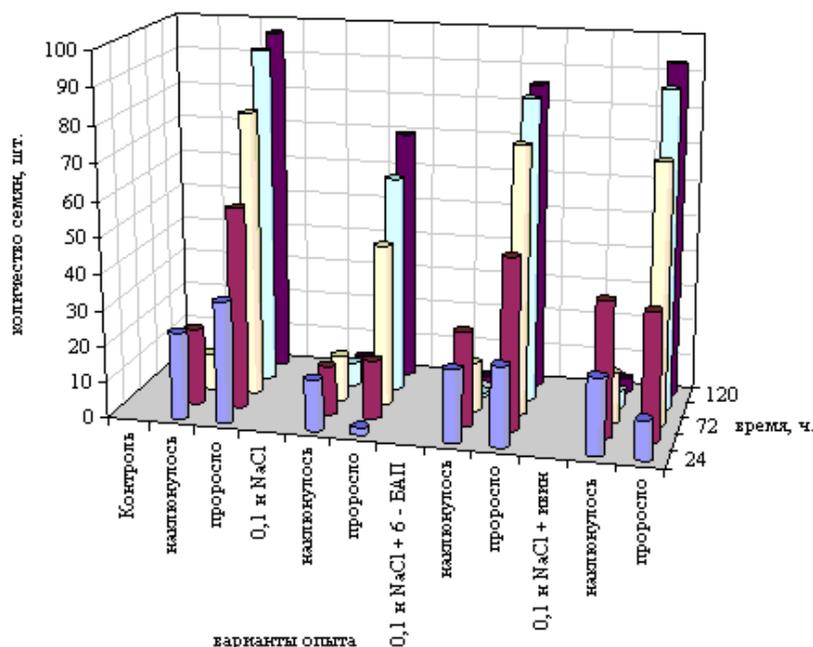


Рис. 2. Динамика наклёвывания и прорастания семян ячменя сорт Сталкер под влиянием хлоридного засоления и экзогенных регуляторов роста (в %).

По данным С.Н. Кабузенко (1997) угнетение солью активности меристемы проявилось в увеличении суммарного времени клеточного цикла, прямо зависящем от концентрации солевого раствора. Продолжительность клеточного цикла в меристеме пшеницы на фоне 0,3% раствора NaCl возросла против контроля на 34,4%, что зависело от продолжительности интерфазы и начальной стадии профазы [5].

Э.К. Луценко с соавторами (1990) показали, что хлоридное засоление тормозит появление первых митозов в прорастающих семенах ячменя, кукурузы и подсолнечника, видимо, это явилось причиной замедления появления зоны растяжения в корешках проростков всех культур при засолении. Зоны деления и растяжения характеризовались меньшими размерами вследствие уменьшения размеров клеток. В результате на фоне засоления наблюдалось отставание роста корешков, и отмечались аномалии в формировании проводящей системы [15].

Механизмы влияния цитокинина на ядерный аппарат клетки разнообразны. Под воздействием фитогормона стимулируется матричная активность хроматина и активность РНК-полимеразы [16]. Кроме того, возможно, его влияние на репликацию ДНК. Так, в клетках меристемы горчицы под влиянием биологически активных веществ наблюдалось уменьшение продолжительности времени репликации хромосомной ДНК. По данным Москалёвой (1987) [17], митотическая активность корневой меристемы кукурузы изменяется в динамике прорастания,

причем ведущая роль в её регуляции принадлежит эндогенному цитокинину, который образуется в осевых органах зародыша.

В наших исследованиях выявлено, что в варианте с экзогенным цитокинином митотическая активность корневой меристемы кукурузы и ячменя значительно возросла на фоне засоления. Препарат 6-БАП увеличил митотическую активность корневой меристемы кукурузы на 29,6%, а для ячменя этот показатель составил 12,1% (табл.1).

Таблица 1.

Митотический индекс клеток корневой меристемы кукурузы и ячменя на фоне хлоридного засоления и регуляторов роста (%)

Вариант опыта	Объект исследований	Время (часы)				
		4.00	5.00	6.00	7.00	8.00
Контроль (H ₂ O)	кукуруза	12,0±0,4	10,8±0,6	9,1±0,8	7,4±0,6	8,1±0,7
	ячмень	13,2±0,8	11,1±0,6	9,1±0,4	7,6±0,4	8,3±0,9
0,1 н NaCl	кукуруза	8,3±0,5	7,0±0,6	6,5±0,4	5,8±0,9	6,1±1,2
	ячмень	9,1±0,9	8,1±0,7	7,2±0,6	5,9±0,5	6,2±1,3
0,1 н NaCl + 6 - БАП	кукуруза	9,1±0,7	8,1±0,9	7,4±0,8	6,6±0,5	7,4±0,7
	ячмень	10,2±0,9	8,7±0,4	7,9±0,8	7,2±0,3	8,2±0,4
0,1 н NaCl + ивин	кукуруза	12,5±0,8	10,2±0,9	8,2±0,1	6,8±0,5	7,9±0,6
	ячмень	11,4±0,7	10,2±0,6	8,7±0,9	6,8±0,4	7,9±1,2

Известно, что препарат ивин обладает как цитокининовой, так и ауксиновой активностью [1]. Исходя из данных таблицы 1, можно отметить существенное стимулирующее действие препарата ивин на митотическую активность кукурузы и ячменя. Для кукурузы этот показатель на 50,6% превысил данные контроля 2, а для ячменя митотическая активность клеток корневой меристемы оказалась на 25,3% выше, чем на засолении.

Данные таблицы 1 наглядно показывают, что пик митотической активности приходится на ранние, предрассветные часы, в период с 4.00 до 5.00 утра.

ВЫВОДЫ

1. На энергию прорастания семян ячменя и кукурузы на солевом фоне значительное положительное влияние оказал препарат 6-БАП.

2. Синтетический регулятор роста ивин проявил сильное стимулирующее действие на более позднем этапе прорастания и повысил всхожесть семян ячменя и кукурузы на солевом фоне. Отмечается его существенное действие на митотическую активность корневой меристемы исследуемых растений.

3. Одним из механизмов стимулирующего действия препарата ивин на прорастание семян злаковых культур в условиях засоления является увеличение митотического индекса меристемы зародыша.

Список литературы

1. Палладіна Т. Механізми посилення солестійкості рослин за допомогою синтетичних регуляторів росту // Тези II Міжнародної конференції. - Львів: „СПОЛОМ”, 2004. - С. 266.
2. Чухлебова Н.С., Беловолова А.А. Особенности микроскопического строения вегетативных органов кукурузы при засолении почвы // Применение удобрений, микроэлементов и регуляторов роста в сельском хозяйстве. Сборник научных трудов. - Ставрополь, 1993. - С.45 -47.
3. Шанько А.В., Бабаков А.В. Белки 14-3-3 регулируют активность H^+ -насоса плазматических мембран корней ячменя *Hordeum disticum* при солевом стрессе // Физиология растений. - 2002. - Т.49, №6. - С. 847-853.
4. Федяева Т.Ю., Петров-Спиридонов А.Е. Биометрические показатели у кукурузы при постоянном и прогрессирующем хлоридном засолении // Известия ТСХА. - 1988. - Вып.3. - С. 99-103.
5. Кабузенко С.Н. Влияние засоления и экзогенных фитогормонов на рост и некоторые физиолого-биохимические функции растений на ранних этапах онтогенезаю - Авторефер. дис... д-ра биолог. наук : 03.00.12 // Киев.ун-т им. Т. Шевченко. - К., 1997. - 47 с.
6. Йонева Ж., Петров-Спиридонов А.Е. Биометрические показатели и осмотический потенциал органов растений в условиях хлоридного засоления // Известия ТСХА. - 1995. - Вып. 3. - С. 120-125.
7. Минаев С.В., Солдатов С.Е., Таланова В.В., Титов А.Ф. Исследование реакции проростков огурца и пшеницы на хлоридное засоление // Биологические исследования растительных и животных систем. - Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 1992. - С.17-23.
8. Кабузенко С.Н., Горшенков А.В., Володькина Л.С. Влияние хлоридного засоления и цитокинина на митотическую активность корней пшеницы и кукурузы // Физиология и биохимия культурных растений. - 1995. - Т. 27, № 1-2. - С. 31 - 35.
9. Луценко Э.К., Марушко Е.А., Кононенко Т.Г., Леонова Т.Г. Влияние фузизокцина на ранние этапы роста сорго при высоких концентрациях NaCl // Физиология растений. - 2005. - Т.52, № 3. - С. 378 - 383.
10. Чижикова О., Палладіна Т. Активність проліндегідрогенази в проростках кукурудзи за умов сольового стресу // Тези II Міжнародної конференції. - Львів: „СПОЛОМ”, 2004. - С. 286.
11. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. - М.: Колос, 1974. - С. 69-99.
12. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высшая школа, 1980. - 293 с.
13. Азибекова З.С. Физиология прорастания и набухания семян некоторых кормовых трав в солевых растворах // Изв. АН АзССР. - 1959. - №2. - С. 52.
14. Троян В. М., Калинин Ф.Л. Частичная синхронизация клеточного деления в меристематических тканях корней // Физиология и биохимия культурных растений. - 1971. - Вып.3, №1. - С. 26 -32.
15. Луценко Э.К., Ляхова Н.Ф., Пахомова Г.А. Влияние засоления на анатомоцитологическую характеристику корней при прорастании семян // Соврем. пробл. экол. анатомии раст.: Материалы 2 Всесоюзного совещ. - Владивосток, 1990. - С. 93-94.
16. Ananiev E.D., Karagyrov L.R., Karanov E.N. Effect of cytokinins on ribosomal RNA Gen Expression in Excised cotyledons of *Cucurbita pero L.* // Planta.- 1987. - V. 170, №3. - P. 341-354.
17. Москалева О.В. Влияние фитогормонов на митотическую активность органов проростков кукурузы // Вестник Ленинградского университета. - 1987. - Сер.3, вып. 2, №10. - С. 118-122.

Поступила в редакцию 20.09.2006 г.