

УДК 581.142

СХОЖІСТЬ НАСІННЯ ПАЖИТНИЦІ БАГАТОРІЧНОЇ (*LOLIUM PERENNE* L.) ПІСЛЯ ПОПЕРЕДНЬОЇ ОБРОБКИ ГІДРАЗИДОМ МАЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ

© 2008 р. **І. О. Тіханков, Ю. В. Лихолат**

Дніпропетровський національний університет
(*Дніпропетровськ, Україна*)

Вивчена динаміка схожості насіння представника дерноутворюючих трав – пажитниці багаторічної (*Lolium perenne* L.) – після попередньої обробки розчинами гідрозиду малеїнової кислоти широкого діапазону концентрацій протягом різних часових інтервалів. Встановлені умови обробки насіння, які призводять до підвищення його схожості та сортові особливості дії регулятора росту.

Ключові слова: *дерноутворюючі трави, Lolium perenne L., динаміка схожості, гідрозид малеїнової кислоти*

Гідрозид малеїнової кислоти (ГМК) належить до широкої групи синтетичних регуляторів росту, які знаходять найрізноманітніше застосування в біотехнології, сільському господарстві, зеленому будівництві [8, 9]. Вивчення його дії на рослинні об'єкти почалися ще в у 50-х роках минулого сторіччя [14, 17]. Більшість досліджень присвячена дії ретарданту на морфологічні ознаки [2] та загальнофізіологічні показники рослин, зокрема інтенсивність дихання [1, 7, 12], вміст хлорофілу [20] та можливості практичного застосування ГМК [3, 13]. Після встановлення розвитку у рослинних організмів за дії ГМК мутагенної реакції більшість робіт стала проводитись саме в цьому напрямі [15, 18]. Однак вплив ГМК вивчався переважно на проростках і дорослих рослинах, і лише незначна кількість публікацій присвячена найпершим етапам ювенільного періоду онтогенезу рослин за умов дії на них даної речовини [16, 23]. Інформації про зміни анатомо-морфологічних ознак газонних трав та їх сортову специфічність за дії ГМК широкого діапазону концентрацій протягом різних часових інтервалів практично немає.

У зв'язку з цим метою наших досліджень було вивчення динаміки схожості насіння та

деяких анатомо-морфологічних показників проростків різних сортів пажитниці багаторічної (*Lolium perenne* L.) після попередньої обробки насіння розчинами ГМК в різних концентраціях за різної експозиції. Вибір *Lolium perenne* як об'єкта досліджень пов'язаний з широким розповсюдженням цього виду в природних екосистемах [21] та використанням його при створенні штучних агрофітоценозів, зокрема, газонів [6, 10, 11].

МЕТОДИКА

Дослідження проводили в лабораторних умовах за загальноприйнятими методиками [8, 9] на ґрунтовому субстраті „Універсальна поліська“ при рН 5,5-6,5 з додаванням рівної за об'ємом кількості піску. Обробку насіння сортів Rapid, Sakini, Esquire розчинами ГМК проводили у темряві при 23°C протягом 24-х або 48-ми год. Використовували такі концентрації регулятора росту: 0,0005; 0,002; 0,008; 0,032 і 0,125 %. Їх було вибрано експериментально шляхом аналізу впливу на онтогенез *Lolium perenne*. Насіння рослин контрольного варіанта замочували у дистильованій воді.

Морфометричні параметри визначали за загальноприйнятими методиками [9]. Аналіз структури апексу пажитниці багаторічної проводили за стандартними методиками [3, 6]. Матеріал фіксували 4% формальдегідом, приготуваним на 0,12 М фосфатному буфері, знево-

Адреса для кореспонденції: Тіханков Ігор Олександрович, Дніпропетровський національний університет, вул. Наукова, 13, м. Дніпропетровськ, 49050, Україна; e-mail: 24traven@ukr.net

СХОЖІСТЬ НАСІННЯ ПАЖИТНИЦІ БАГАТОРІЧНОЇ

джували у серії спиртів і заливали в Епон [5]. Напівтонкі зрізи робили на ультрамікротомі УМТП-4, фарбували сумішшю малахітового зеленого і метилового фіолетового та фотографували з використанням мікрофотонасадки МФН-12 до мікроскопу „Биолам“.

Досліди виконували у 4-разовій повторності. Статистичну обробку результатів проводили згідно з методиками [4]. Обговорюються ефекти вірогідні при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Цитологічний аналіз зародка *L. perenne* показав, що в ньому проліферативна активність за температури 23°C починається через 18-22 год від початку набрякання насіння, тобто незадовго до того, коли надходження ГМК до тканин практично припиниться. Аналогічні особливості були встановлені іншими дослідниками [3]. В разі більш тривалої, 48-годої обробки, ГМК продовжує надходити у клітини проростків, у яких вже активно йдуть проліферативні процеси.

Аналіз структури апексу *L. perenne* показав (рис. 1), що перші мітози у даного виду злакових відбуваються у верхній частині апексу і в примордії третього листка. При цьому переважають антиклинальні поділи. Якщо в центральній частині цитокінез ще не відбувся, то на периферії, ближче до примордію 3-го листка і у самому примордії чітко видно сформовані стінки між дочірніми клітинами. Поряд з цим, в інтеркалярній меристемі двох зародкових листків мітотичної активності не спостерігалось. На 30-у годину завершуються цитокінези перших мітотичних поділів, і клітини вже діляться як в антиклинальному, так і в периклинальному напрямках. При цьому утворюються дрібні клітини ізодіаметричної форми: відбувається завершення каріокінезу і формування ядер дочірніх клітин в апікальній меристемі. Ріст 1-го і 2-го справжніх листків розпочинається активацією інтеркалярної меристеми приблизно з 24-30-ої години.

Нежиттєздатні проростки були відсутні в контролі та у варіантах з низькою концентрацією ГМК (0,0005 і 0,002 %). Проте вони з'явилися у варіанті з концентрацією 0,008 % для сортів Sakini, Esquier і у значній кількості (до 25 %) були присутні у варіанті з концентрацією 0,032 %. Довжина колеоптиля не перевищувала 1 см. Як правило, він мав червонофіолетове забарвлення або був безбарвним. Кілька таких проростків випустили перший спра-

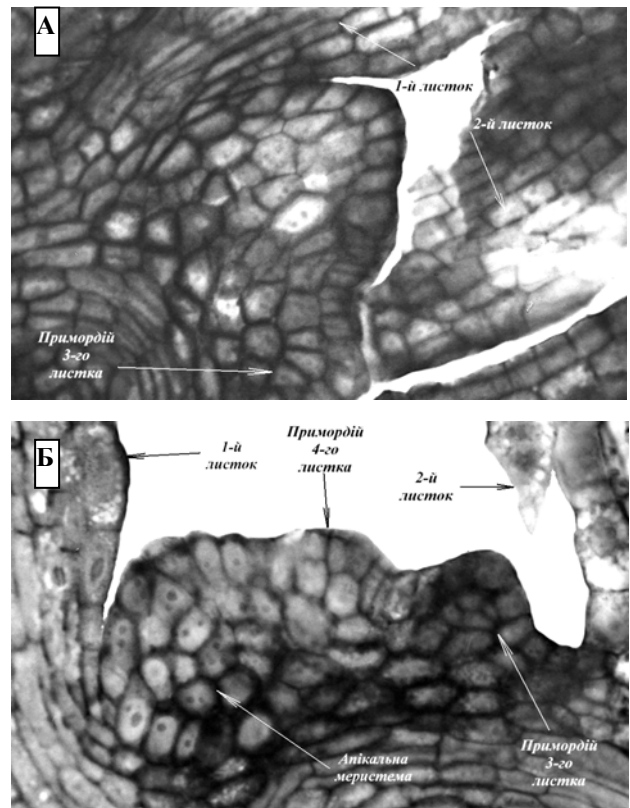


Рис. 1. Апекс зародка *L. perenne* через 18 (А) і 30 (Б) год після замочування, х80.

вжній лист, який, досягнувши довжини 4-5 см, так і не розвернувся і абсолютно не мав хлорофілу. У варіанті з концентрацією 0,125 % кількість листків складала 7 %. У сорту Rapid подібні проростки починають з'являтися за дії більшої концентрації ГМК (0,032 %), а їх присутність у варіанті з 0,125 % концентрацією дорівнювала 28%.

Встановлена енергія проростання насіння після попередньої обробки розчинами ГМК протягом 24 год за температури 23°C (рис. 2). Найбільш високими темпами проростання в контрольному варіанті характеризується сорт Esquier, проте проростання насіння цього сорту, обробленого розчинами ГМК у низькій та середній концентраціях, було повільнішим порівняно з відповідним показником у сортів Rapid і Sakini. Особливо це помітно при порівнянні з сортом Rapid при обробці його насіння розчином ГМК у концентрації 0,0005 %. Енергія проростання в цьому варіанті досліду сягала 100 %. Якщо розчини з концентраціями 0,0005 %, 0,002 % і 0,008 % чинили стимулюючий ефект на начиння сортів Rapid і Sakini, то для сорту Esquier вони знижували енергію проростання. Що стосується обробки розчинами ГМК в концентраціях 0,032 % і 0,125 %, то тут може йтися лише про стійкість рослин вище зазначе-

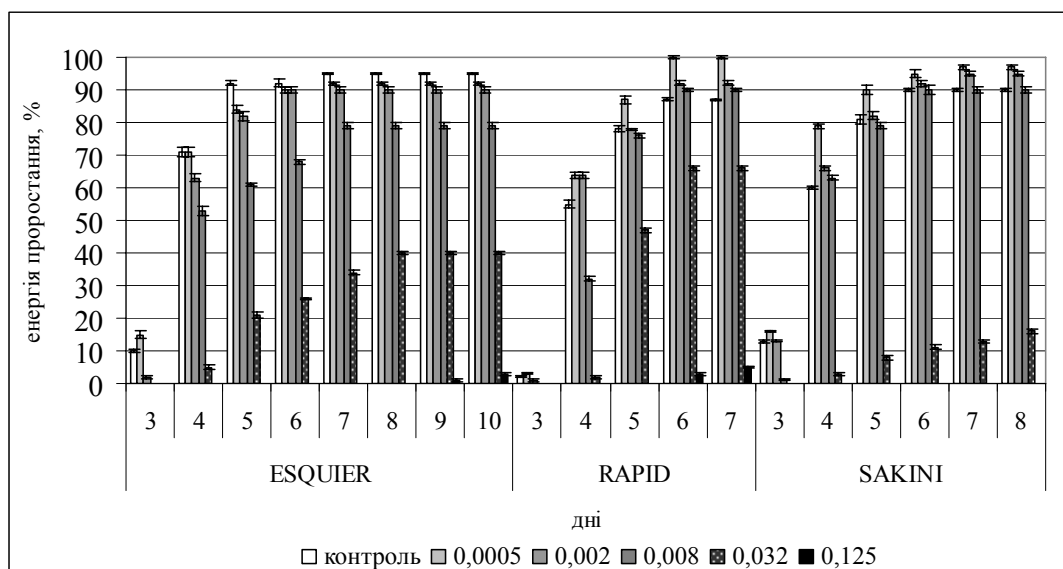


Рис. 2. Динаміка енергії проростання насіння після попередньої обробки розчинами ГМК протягом 24 год.

них сортів до високих концентрацій цього ретарданту. Найбільш чутливим до них виявився сорт Sakini. Динаміка проростання його насіння після обробки 0,032 % розчином ГМК наближалася до динаміки проростання насіння сорту Rapid, обробленого розчином ГМК в чотири рази більшої концентрації, а у варіанті з 0,125 % розчином схожість була нульовою. Слід також зазначити, що найменший діапазон реакції, яка являє собою різницю між максимумом і мінімумом енергії проростання, на дію застосованих розчинів ГМК виявився у сорту Esquier. При цьому його відповідь була розтягнута у часі, поява рослин закінчилася лише на 10 добу після висадки на субстрат.

Низькі концентрації ГМК (0,0005 % і 0,002 %) чинили стимулюючий вплив на схожість насіння сортів Rapid і Sakini, особливо першого з них, для якого характерна найменша з усіх сортів енергія проростання у контролі. Слід відзначити, що при цьому найбільша швидкість і тривалість росту характерна для сорту Rapid, його рослини досягали більшої довжини листа і товщини проростка порівняно з Sakini і, особливо, Esquier. Таким чином, існує обернено пропорційна залежність між висотою рослини, швидкістю її росту та енергією проростання насіння: чим вищі темпи росту, тим менша енергія проростання. З урахуванням цієї особливості досліджувані сорти за енергією проростання можна розташувати у такій послідовності: Rapid < Sakini < Esquier, а за швидкістю росту - Rapid > Sakini > Esquier.

За впливу ГМК на проростання насіння виявлені інші залежності. По-перше, чим менша схожість насіння, тим більш виражений стимулюючий ефект виявляють низькі концентрації ГМК. В той же час, для сорту з найвищою енергією проростання вплив ГМК призводить до пригнічення процесу. За енергією проростання сорти розташовані так: Rapid < Sakini < Esquier; за стимулюючим ефектом ГМК: Rapid > Sakini > Esquier.

По-друге, чим інтенсивніша схожість насіння, тим стійкіша рослина до гербіцидної дії високих концентрацій ГМК: інтенсивність проростання – Rapid > Esquier > Sakini; гербіцидний ефект ГМК – Rapid < Esquier < Sakini.

Значні відмінності між сортами спостерігалися і після обробки насіння розчинами ГМК протягом 48 год (рис. 3). Проте стимулюючий ефект був виявлений за дії концентрації 0,002 %, а не в чотири рази меншої, як у попередній серії дослідів. Насіння сорту Rapid, оброблене 0,002 %-ним розчином ГМК сходило швидше порівняно з насінням сорту Sakini, обробленим таким же розчином. Для сорту Esquier, для якого характерна низька швидкість росту, зростання схожості насіння спостерігалось за дії 0,002 %-го розчину ГМК. Дія 0,0005%-ного розчину ГМК була вираженою слабше і виявлялася лише на 7-у добу від дня перенесення насіння на субстрат, що склало затримку в три доби порівняно з сортом Rapid. Підвищення концентрації ГМК з часом мали явно виражений пригнічуючий характер.

СХОЖІСТЬ НАСІННЯ ПАЖИТНИЦІ БАГАТОРІЧНОЇ

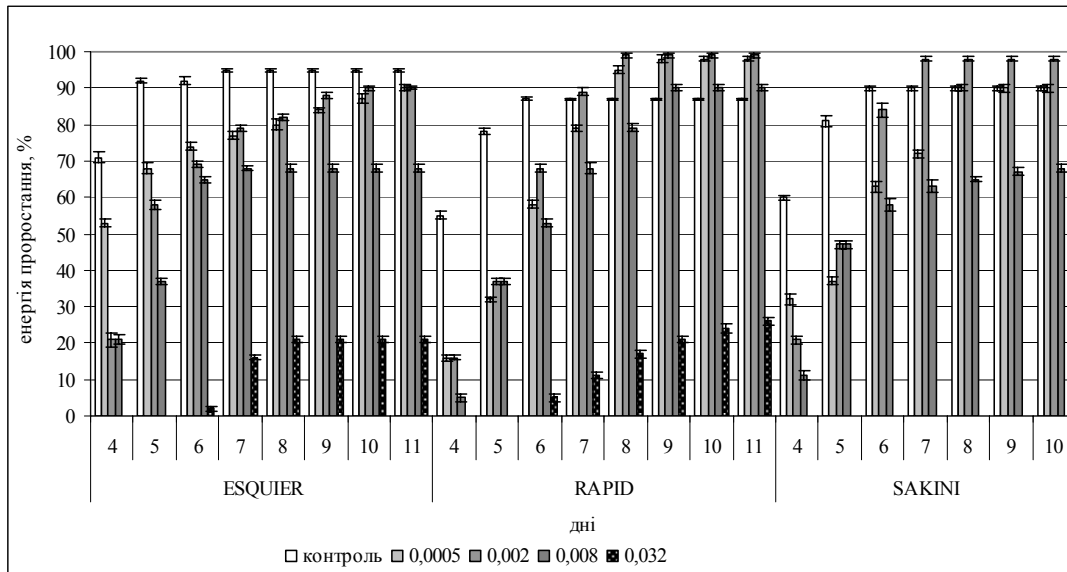


Рис. 3. Динаміка енергії проростання насіння після попередньої обробки розчинами ГМК протягом 48 год.

Як результат, досліджувані сорти за швидкістю росту можна розмістити у такій послідовності – Rapid > Sakini > Esquier; за стимулюючим ефектом 0,002% розчину ГМК – Rapid > Sakini > Esquier.

Дія низьких концентрації ГМК виявлялася у підвищенні енергії проростання рослин у сортів Rapid і Sakini при 24-год обробці насіння 0,0005 % розчином ретарданту. Підвищення концентрації до 0,002 % також виявляє стимулюючий ефект на досліджувані сорти. Виняток складає сорт Esquier, який, на нашу думку, більш чутливий до даного ретарданту. Обробка насіння протягом 48 год розчинами ГМК у високих концентраціях призвела до зниження енергії проростання на початку і зростання схожості наприкінці досліджу.

Ці результати можна пов'язати з даними інших авторів про меншу чутливість до дії ГМК інтеркалярної меристеми порівняно з апікальною і тим, що такі відмінності зумовлені характером взаємодії цієї речовини з певними ділянками хроматину [2]. Коли в клітині починаються синтетичні процеси, деякі ділянки хроматину деконденсуються повністю або частково, відкриваючи таким чином доступ ГМК до місць зв'язування з ДНК чи структурними/регуляторними білками [2]. Саме доступність окремих ділянок хроматину, на яких розташовані певні групи генів, для ГМК може визначати не лише різну чутливість меристем, але й сортові відмінності, які спостерігалися під час досліджу. ГМК є кластогеном і слабким мутагеном [18, 19]. Можна припустити, що ефек-

ти, які спостерігалися, зумовлені особливостями репараційних систем всіх трьох сортів. Можливість такого трактування впливає з роботи Murin G. [22], виконаної на *Arabidopsis thaliana*. Показано, що гени, які відповідають за процеси репарації, в еволюційному плані висококонсервативні, і тому ці результати з певною обережністю можна екстраполювати на інші види. Таким чином, вибудовується наступна схема. Активізація клітин апікальної меристеми призводить до інтенсифікації фізіологічних процесів, які протидіють впливу ГМК. Трохи пізніша активізація інтеркалярних меристем має такий самий ефект, але концентрація ГМК, за якої він буде максимальним, трохи вища. Те, що спостерігається зміна тенденції відставання на випередження свідчить про посилення протидії рослин при зростанні кількості ГМК, що знаходиться у тканинах в активному стані. Тобто, чим сильніший вплив ГМК, тим інтенсивніше рослини йому протидіють, але тільки в тому разі, коли активується інтеркалярна меристема.

Однак, за певної концентрації, можливість протидіяти вичерпуються, що виявляється у зниженні енергії проростання і появі нежиттєздатних проростків. Можна припустити, що цей момент є переходом від ретардантної дії ГМК до гербіцидної. Однак, він може бути зумовлений також виникненням мутацій чи обома цими причинами. Оцінюючи динаміку появи нежиттєздатних проростків, можна зробити аналогічні висновки про протидію рослин хімічному стресовому фактору, але вже на якісно іншому рівні. Йдеться вже не про досягнення максимальних життєвих показників, а про здатність ро-

слин вижити. Оцінюючи реакцію різних сортів на дію високих концентрацій ГМК, слід зазначити, що сорт Sakini стає більш схожим на Esquier, адже динаміка зростання кількості нежиттєздатних проростків з наступним її зниженням у них однакова. На відміну від цього, при обробці насіння розчинами менших концентрацій динаміка появи нормальних проростків у Rapid і Sakini була однаковою і принципово відрізнялась від того, що мало місце у випадку з Esquier. Це є свідченням того, що найбільшу стійкість до ГМК з усіх трьох сортів має Rapid. Найнижча стійкість характерна для Esquier, сорт Sakini є середньостійким.

Незалежно від того, яким чином ГМК у високих концентраціях діє на рослини, як мутаген чи гербіцид, стійкість до нього, без сумніву, є генетично обумовленою. Можна припустити, що на стадії набрякання насіння ретардант не виявляє своєї активності. Набрякання відбувається в перші 12 год, коли активно поглинається вода з розчином у ній ГМК і гідратуються білки. Процеси поділу клітин у *L. perenne*, як видно з рис. 1, починаються з 18-20 годи. Тільки з цього моменту можна припустити реалізацію фізіологічної активності ГМК через механізм взаємодії з ДНК.

Ще однією причиною підвищення схожості насіння може бути те, що ГМК, подібно до інших ретардантів, спричиняє потовщення клітинних стінок і більш інтенсивний розвиток механічних тканин [9]. Завдяки цьому проросток легше долатиме механічний опір ґрунту, що теж призведе до підвищення схожості.

Таким чином, при обробці насіння розчинами ГМК широкого діапазону концентрацій, реалізація його дії може відбуватися різними шляхами. Отримані дані не лише демонструють складність процесів, які супроводжують вихід насіння зі стану спокою і перші етапи розвитку зародка, але можуть мати значення для розуміння дії на рослинні організми фізіологічно активних речовин, подібних до ГМК.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авакян А.Х., Маркосян К.А., Паитян Н.А., Налбандян Р.М. Эффект производных гидразина как регуляторов роста растений на активность цитохромоксидазы // Изв. АН СССР. Сер. Биология. – 1989. – № 2. – С. 302-304.
2. Биохимия регуляции онтогенеза растительной клетки / Калинин Ф.Л., Троян В.М., Махно А.Н. и др. – Киев: Наукова думка, 1983. – 268 с.
3. Блиновский И.К., Калашиников Д.В., Кокурин А.В. Разработка синергических смесей ретардантов на основе изучения механизма их действия // Регуляторы роста растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – С. 36-45.
4. Бронштейн И.Н., Семендяев К.А. Справочник по математике для инженеров и учащихся втузов. – М.: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1953. – 610 с.
5. Гайер Г. Электронная гистохимия. – М.: Мир, 1974. – 488 с.
6. Лантев А.А. Газоны. – Киев: Наукова думка, 1983. – 176 с.
7. Полевой В.В., Салматова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1991. – 240 с.
8. Ракитин Ю.В. Биологически активные вещества как средства управления жизненными процессами растений // Ю.В. Ракитин. Избранные труды. Химические регуляторы жизнедеятельности растений. – М.: Наука, 1983. – С. 232-246.
9. Регуляторы роста растений / Гамбург К.З., Кулаева О.Н., Муромцев Г.С. и др. – М.: Колос, 1979. – 247 с.
10. Сигалов Б.Я. Долголетние газоны. – М.: Наука, 1971. – 311 с.
11. Швелуха В.С., Блиновский И.К. Состояние и перспективы исследований и применения фиторегуляторов в растениеводстве // Регуляторы роста растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – С. 6-35.
12. Benkeblia N. Effect of maleic hydrazide on respiratory parameters of stored onion bulbs (*Allium cepa* L.) // Braz. J. Plant Physiol. – 2004. – V. 16, № 1. – P. 47-52.
13. Burton W.G. The cost of chemical methods of preventing the sprouting of potatoes // The International Journal of Applied Radiation and Isotopes. – 1959. – V. 6. – P. 225.
14. Daste P. The effect of maleic hydrazide on the development of Azobacter and Cytophaga // C. R. Seances Soc. Biol. Fil. – 1952. – V. 146, № 11-12. – P. 849-852.
15. Endo T. Comparison of the effects of gamma-rays and maleic hydrazide on enzyme systems of maize seed // Radiation Botany. - 1967. – V. 7, Is. 1. – P. 35-38.
16. Garrard L. A., Biggs R. H. A study of thioamide-induced germination of seeds of *Prunus persica* // Phytochemistry. – 1966. – V. 5, Is. 1. – P. 103-110.

СХОЖІСТЬ НАСІННЯ ПАЖИТНИЦІ БАГАТОРІЧНОЇ

17. *Gautheret Rj.* Investigations on the effect of maleic hydrazide on the development of cultures of tissues of carrot and endive // *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* – 1952. – V. 146, № 11-12. – P. 859-861.
18. *Gichner T., Menke M., Stavreva D.A., Schubert I.* Maleic hydrazide induces genotoxic effects but no DNA damage detectable by the Comet assay in tobacco and field beans // *Mutagenesis.* – 2000. – V. 15, № 5. – P. 385-389.
19. *Hughes C., Spragg S. P.* The inhibition of mitosis by the reaction of maleic hydrazide with sulphhydryl groups // *Biochem. J.* – 1958. – V. 70, № 2. – P. 205-212.
20. *Kalyani V., Kathiresan K., Gnanarethnam J. L.* Maleic hydrazide induced changes in the physiology of *Salvinia molesta* mitch // *Aquatic Botany.* – 1985. – V. 21, Is. 2. – P. 95-200.
21. *Keating, T., Keating P. O.* Comparison of old permanent grassland, *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum* swards grown for silage: 1. Effects on beef production per hectare // *Irish Journal of Agricultural and Food Research.* – 2000. – V. 39, №. 1. – P. 1-24.
22. *Murin G.* Unscheduled DNA synthesis in growing roots and stored embryos of *Vicia faba* after the action of maleic hydrazide and methyl methanesulphonate // *Mutat. Res.* – 1990. – V. 245, № 2. – P.83-86.
23. *Noodén L.D.* Inhibition of nucleic acid synthesis by maleic hydrazide // *Plant Cell Physiol.* – 1972. – V. 13, № 4. – P. 609-621.

Надійшла до редакції
26.07.2007 р.

THE SPROUTING OF PERENNIAL RYEGRASS (*LOLIUM PERENNE* L.) AFTER PRETREATMENT WITH MALEIC HYDRAZIDE

I. O. Tikhankov, Yu. V. Lykholat

*Dnipropetrovsk National University
(Dnipropetrovsk, Ukraine)*

The germination dynamics of the seeds of sod forming grasses representative – perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) – after the previous processing by maleic hydrazide solutions of the concentration wide range for various term intervals was investigated. Conditions of seeds treatment resulting in increase of their similarity and varietals features of growth regulator influence have been examined.

Key words: *sod forming grasses, Lolium perenne L., germination dynamics, maleic hydrazide*

ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН РАЙГРАСА ПАСТБИЩНОГО (*LOLIUM PERENNE* L.) ПОСЛЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ГИДРАЗИДОМ МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

И. А. Тиханков, Ю. В. Лихолат

*Днепропетровский национальный университет
(Днепропетровск, Украина)*

Изучена динамика всхожести семян представителя дернообразующих трав – райграса пастбищного (*Lolium perenne* L.) – после предварительной обработки растворами гидразида малеиновой кислоты широкого диапазона концентраций на протяжении различных временных промежутков. Установлены условия обработки семян, которые приводят к повышению их всхожести, и сортовые особенности действия регулятора роста.

Ключевые слова: *дернообразующие травы, Lolium perenne L., динамика всхожести, гидразид малеиновой кислоты*