

УДК 581.14:630

І. О. Тіханков, Ю. В. Лихолат

Дніпропетровський національний університет

РОЗВИТОК КОЛЕОПТИЛЮ ПАЖИТНИЦІ ПІД ВПЛИВОМ ГІДРАЗИДУ МАЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ У РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУРНИХ УМОВАХ

Продемонстровано, що дія гідрозиду малеїнової кислоти на формування надземної частини дернотвірних трав залежить від температурних умов обробки насіння та формування проростків. Пропонується методика відбору проростків рослин з розтягнутим часовим інтервалом розвитку для вивчення перших етапів морфогенезу. Запроваджується поняття коефіцієнта фізіологічної активності ретарданту та температурного коефіцієнта розвитку.

Influence of the maleinic acid hydrazine on the formation of above-ground part of the turf forming grasses depends on the temperature of seeds treatment and germination. The method of selection of the seedlings with elongated developmental interval has been proposed for the investigations of fist ontogenesis stages. The concept of a retardant's physiological activity coefficient and a temperature coefficient of development are proposed.

Вступ

Розвиток рослинного організму з відносно просто організованого зародка являє собою системний процес, усі етапи якого відбуваються строго впорядковано та послідовно під контролем цілого ряду факторів, що діють на різних рівнях організації живого організму. Кожний попередній етап морфогенезу являє собою початок наступного. В основі цих подій лежать складні процеси, що відбуваються на молекулярному, генетичному та біохімічному рівнях, впливаючи на які різними чинниками, можна регулювати розвиток рослини. Відомо, що добитися спрямованої регенерації органів з калюсу найважче саме для злакових культур, певна частина яких представлена дернотвірними травами. Саме вони складають значну частину біомаси багатьох екосистем і відіграють важливу роль у формуванні фізико-хімічних властивостей ґрунту.

Базуючись на результатах попередніх досліджень [5], ми запропонували методичний підхід, згідно з яким, впливаючи на рослини інгібіторами певних шляхів метаболізму в комплексі з дією інших інгібуючих або активуючих чинників, можна проаналізувати процеси морфогенезу та визначити механізми їх реалізації з метою подальшого використання на практиці. Подібного підходу дотримуються вчені, які вивчали процеси мітозу в апікальній меристемі арабідопсису, обробляючи рослини афідиколіном, гідроксисечовиною та оризаліном [11]. На нашу думку, особливий інтерес становить гідрозид малеїнової кислоти (ГМК). Ця речовина за низьких концентрацій діє як ретардант, перерозподіляючи потоки метаболітів у тканинах [12] і не викликаючи суттєвого пригнічення росту та розвитку рослин [4]. За високих концентрацій це – типовий гербіцид [2; 7]. Існують неспростовні докази того, що ГМК діє як антиметаболіт урацилу [1; 6]. Але не відомо, у яких ланках метаболізму урацил замінюється на ГМК, адже ця речовина задіяна в різних компартментах клітини у декількох біохімічних процесах. Аргумент про подібність структурних формул піримідинових основ та ГМК не є достатньо переконливим. Адже рівною мірою можна сказати, що їхні структури значно різняться між собою. Можливо, слід враховувати те, що у різних процесах, до яких залучена ця сполука, існують різні вимоги щодо конформації взаємодіючих елементів. У цьому разі ефективність конкуренції ГМК з ураци-

© І. О. Тіханков, Ю. В. Лихолат, 2006

175

лом буде різною в різних точках шляхів метаболізму, і найкраще це проявлятиметься за низьких концентрацій ретарданту. Крім вищезазначеного, ГМК змінює гормональний баланс рослин [8; 9] і також може зв'язуватись із білками хроматину [1; 10], впливаючи таким чином на процес морфогенезу.

Мета даної роботи – з'ясувати вплив цього ретарданту в розчинах різної концентрації на розвиток надземної частини дернотвірних трав за різного температурного фону.

Матеріал і методи досліджень

Насіння пажитниці звільнялось від лусок і пророщувалось у термостаті в чашках Петрі на хроматографічному папері за методикою Ю. В. Ракитіна [3]. Розчини ГМК готувалися безпосередньо перед використанням шляхом розведення маточного 0,5 % розчину, який зберігався в холодильнику. Застосовувалися концентрації 0,0005, 0,0020, 0,0313 і 0,125 % при температурі +22°C. Тобто використовували два розчини з низькою концентрацією, коли переважає ретардантна дія ГМК, і два розчини з високою концентрацією, коли переважає гербіцидна дія. Для з'ясування характеру впливу температури на дію ретарданту брали лише максимальні концентрації в кожному з вищезазначених діапазонів, а саме 0,0020 і 0,125 %. У цих двох варіантах температуру підвищували до +30°C.

Контролем слугували інтактні проростки, вирощені на дистилаті за температурі +22 і +30°C. У кожному варіанті було 6 чашок Петрі по 20 насінин у кожній. Освітлення досліджуваних рослин інтенсивністю 1000 лк забезпечувалося протягом 12 годин на добу. Довжина проростків і колеоптилю вимірювалася за допомогою бінокулярного мікроскопа МБС-9. Кожний дослід тривав 90 годин і розбивався на шестигодинні періоди, наприкінці яких проводились виміри, починаючи з 18-ї години після замочування насіння (3-й період) і закінчуючи 90-ю годиною (15-й період).

Будували й аналізували графіки часової залежності натурального логарифма середньої довжини надземної частини проростка $\ln L$, коефіцієнта фізіологічної активності ретарданту $K_{\phi a}$ та температурного коефіцієнта розвитку K_m . Коефіцієнт фізіологічної активності ретарданту $K_{\phi a}$ характеризує збільшення або зменшення інтенсивності росту колеоптилю при дії розчину певної концентрації та визначається поділом середньої довжини колеоптилю в дослідженому варіанті на середню довжину колеоптилю в контролі. Його позитивні значення свідчать про активуючу дію ГМК, від'ємні – про інгібування росту. Температурний коефіцієнт розвитку K_m показує збільшення інтенсивності росту колеоптилю при зростанні температури на 8°C і визначається як результат поділу середньої довжини колеоптилю в кожному варіанті при +30°C на середню довжину колеоптилю у відповідному варіанті при +22°C.

Результати та їх обговорення

На рис. 1 і 2 показані графіки, які демонструють особливості розвитку колеоптилю в кожному з варіантів дослідження. Показано, що криві, які характеризують дію ретарданту, до певного часу розташовані над кривими контролю. Це говорить про те, що усі розчини ГМК незалежно від їх концентрації стимулюють розвиток проростків до моменту перетину графіків. Виняток складає лише варіант 0,0020 % концентрації при 22°C. Тобто в проростках імовірно існують ендогенні інгібітори, дія яких знімається під впливом ГМК. Із результатів наших досліджень ми не можемо судити про природу цих інгібіторів: є вони відомими фітогормонами чи мають білкову природу. Адже припускається, що в рослинах можуть існувати фізіологічно активні пептиди, подібні до кейлонів тваринних організмів [1]. Крім того, ГМК впливає на матричну активність ДНК, зв'язуючись з білками хроматину [1; 10].

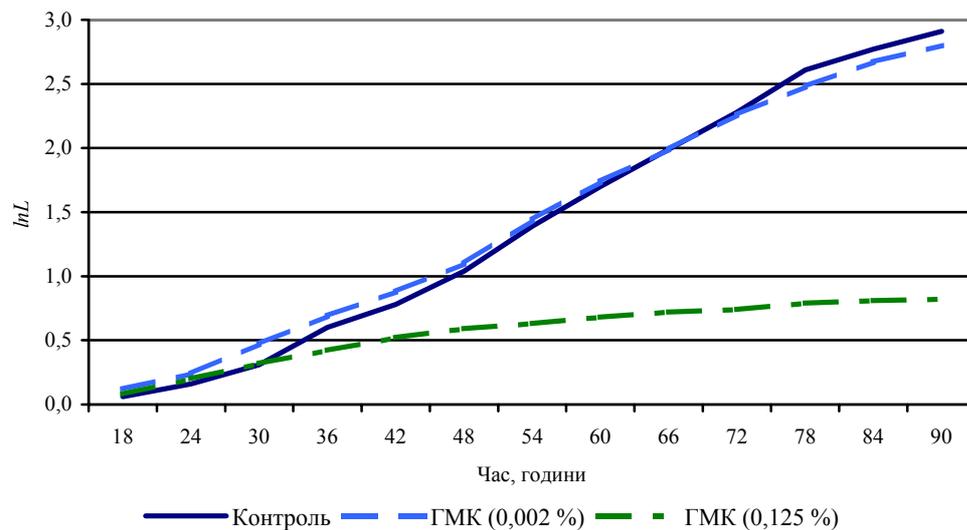


Рис. 1. Динаміка росту колеоптилю при +30°C

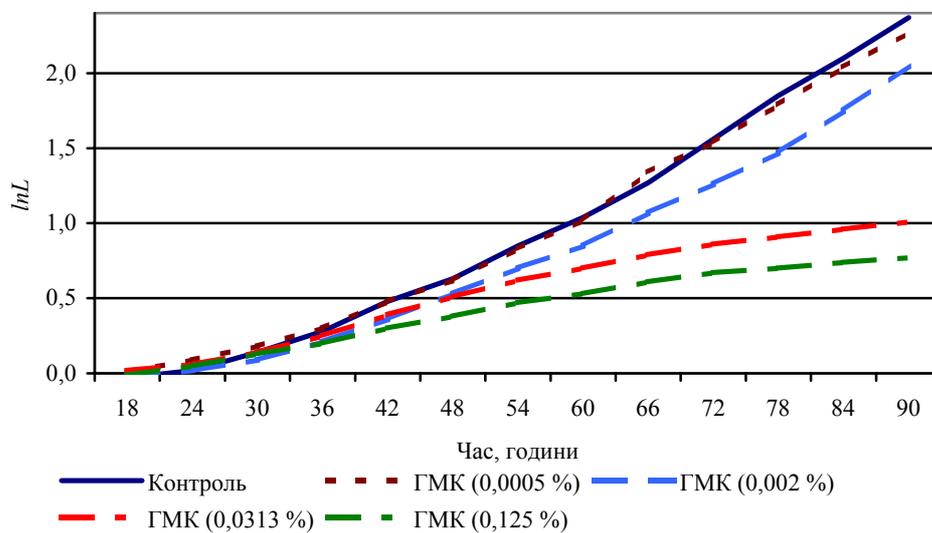


Рис. 2. Динаміка росту колеоптилю при +22°C

Встановлено, що чим більша концентрація ГМК, тим раніше перетинаються графіки для цих концентрацій з кривими контролю. Необхідно мати на увазі, що ріст проростків відбувається за рахунок поділу меристематичних клітин і процесів розтягнення диференційованих клітин. При цьому внесок у процес росту апікальною меристемою поступово зменшується і починає превалювати ріст за рахунок активності інтеркалярної меристеми. Для контролю і варіантів з низькою концентрацією ГМК такі зміни настають після 42–54 годин при +30°C і дещо пізніше при +22°C. Це важливо в тому плані, що інтеркалярна меристема, на відміну від апікальної, менш чутлива до дії ретардантів [1]. Графіки, які відповідають розчинам з високою концентрацією ГМК (0,0313 і 0,125 %), характеризують гербіцидний характер їх дії (рис. 3).

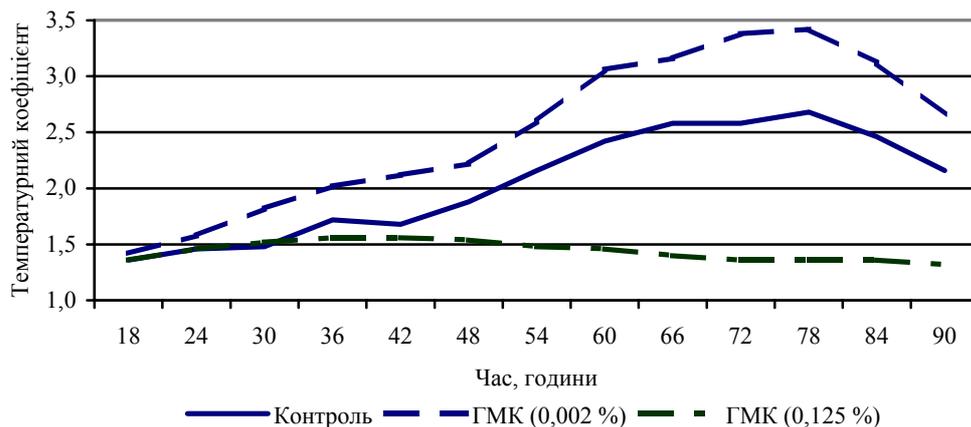


Рис. 3. Динаміка зміни температурного коефіцієнта розвитку K_t .

Особливий інтерес становить розвиток проростків, оброблених розчином ГМК з концентрацією 0,002 %. При +30°C ГМК здійснює тривалий і дуже добре виражений активуючий вплив. У той саме час при +22°C спостерігається протилежне явище. Графіки температурних коефіцієнтів на рис. 4 показують, що крива для 0,002 % концентрації розташована значно вище від кривої контролю. Це – показник того, що зміна температурного режиму найсильніше відбивається на проростках, оброблених саме 0,002 %-м ГМК. Отримані результати доводять, що вища температура посилює активуючу дію ГМК (за її низької концентрації – 0,002 %) і гербіцидну дію – за високої концентрації (0,125 %).

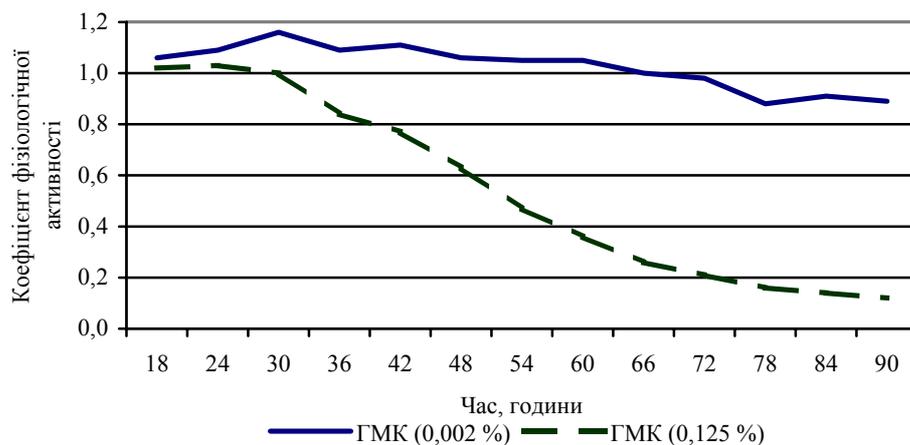


Рис. 4. Динаміка коефіцієнта фізіологічної активності K_{fa} при +30°C.

Цей висновок також виходить із порівняння графіків фізіологічної активності при різних температурних режимах, які представлені на рис. 4 і 5. Якщо K_{fa} набуває значень, більших за одиницю, це свідчить про активуючу дію ретарданту. Значення K_{fa} , менші за одиницю, вказують на пригнічувальну дію ГМК. При повному припиненні росту коефіцієнт фізіологічної активності набуває нульового значення.

Отримані результати опосередковано доводять можливість існування кількох механізмів впливу гідразиду малеїнової кислоти на рослинний організм, кожний з яких на певних етапах розвитку і за певних умов навколишнього середовища робить

певний внесок у відповідь рослини на дію ретарданту. До того ж, деякі шляхи метаболізму, що задіяні в реакціях рослини на підвищену температуру, можуть частково перетинатися з біохімічними процесами, до яких залучений ГМК.

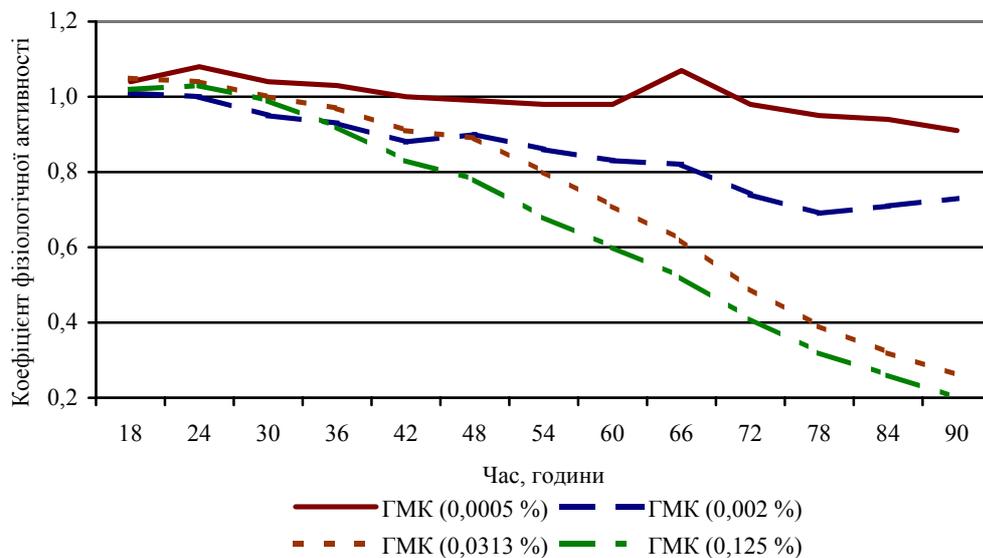


Рис. 5. Динаміка коефіцієнта фізіологічної активності K_{fa} при +22°C.

Висновки

Щодо застосування ретарданту на практиці, наприклад, для збільшення біомаси трав'яного покриття, сформованого злаками, має перспективу використання розчинів ГМК низької концентрації й лише за достатньо високої температури, можливо, тільки в літні місяці. Якщо за мету ставиться запобігання переростанню газонних трав і поліпшення загального вигляду газонів, температурних обмежень при обробці ретардантом немає. Слід тільки зважати на необхідність збільшення концентрації розчину ГМК із підвищенням температури.

Бібліографічні посилання

1. **Калинин Ф. Л.** Биохимия регуляции онтогенеза растительной клетки / Ф. Л. Калинин, В. М. Троян, А. Н. Михно. – К.: Наукова думка, 1983. – 268 с.
2. **Мельников Н. Н.** Химические средства защиты растений (пестициды). Справочник / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, Т. Н. Пылова. – М.: Химия, 1980. – 288 с.
3. **Ракитин Ю. В.** Первичная биологическая оценка химических соединений в качестве регуляторов роста растений и гербицидов / Ю. В. Ракитин, В. Е. Рудник // Ю. В. Ракитин. Избранные труды. Химические регуляторы жизнедеятельности растений. – М.: Наука, 1983. – С. 232–246.
4. **Регуляторы** роста растений // К. З. Гамбург, О. Н. Кулаева, Г. С. Муромцев и др. – М.: Колос, 1979. – 247 с.
5. **Тіханков І. О.** Морфогенез проростків пажитниці під впливом гідразиду малеїнової кислоти / І. О. Тіханков, Ю. В. Лихолат // Сучасні проблеми фізіології рослин і біотехнології. Матер. конф. молодих учених. – Ужгород: УжНУ, 2005. – С. 119.
6. **Coupland D.** Maleic hydrazide as an antimetabolite of uracil / D. Coupland, A. Peel // Planta. – 1972. – Vol. 103. – P. 249–253.
7. **Cytotoxicity** and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. // L. Marcano, I. Carruyo, A. Del Campo, X. Montiel // Environ. Res. – 2004. – Vol. 94. – P. 221–226.

8. **Effect** of maleic hydrazide on endogenous cytokinin contents in lateral buds, and its possible role in flower bud formation on the Japanese pear shoot // A. Ito, H. Hayama, Y. Kashimura, H. Yoshioka // *Scientia horticulturae*. – 2001. – Vol. 87. – P. 199–205.
9. **Haber A.** Action of maleic hydrazide on dormancy, cell division and cell expansion / A. Haber, J. White // *Plant Physiol.* – 1960. – Vol. 35. – P. 495–499.
10. **Hughes C.** The inhibition of mitosis by the reaction of maleic hydrazide with sulphhydryl groups / C. Hughes, S. Spragg // *Biochem. J.* – 1958. – Vol. 70. – P. 205–212.
11. **In vivo** analysis of cell division, cell growth and differentiation at the shoot apical meristem in *Arabidopsis* // O. Grandjean, T. Vernoux, P. Laufs et al. // *The plant cell.* – 2004. – Vol. 16. – P. 74–87.
12. **Komossa D.** Plant metabolic studies of the growth regulator maleic hydrazide / D. Komossa, H. Sandermann // *J. Agric. Food Chem.* – 1995. – Vol. 43. – P. 2713–2715.

Надійшла до редколегії 17.02.06.