

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЕНАХ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СМЕНЫ СВЕТОВОГО РЕЖИМА ПРИ УФ-ОБЛУЧЕНИИ СЕМЯН

Е. Н. Симонова¹, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, e.n.simonova@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-5665-6699;

Н. С. Кравченко², кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимической оценки селекционного материала и качества зерна, ORCID ID: 0000-0003-3388-1548

¹ДКГИПТБ (филиал) ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления им. К. Г. Разумовского (ПКУ)»,

г. Ростов-на-Дону, пр. Семашко, 55;

²ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,

347740, г. Зерноград, Научный городок, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

Один из ведущих экологических факторов, действующий при нарушении целостности озонового слоя, – естественная ультрафиолетовая радиация влияет на растительные организмы в естественной природной среде. Искусственные источники ртутно-кварцевые лампы, такие как БНПО 2-30-001У3,5, могут использоваться в растениеводстве для стимулирования процессов прорастания семян. В статье показано, что УФ-облучение семян вызывает изменения в ходе процесса роста и морфогенеза растений. Ультрафиолетовое облучение, как и любой стрессовый фактор, вызывает реакции адаптации, включающие изменения физиолого-биохимических процессов, в том числе и повышение активности ферментов. Стимуляция во время прорастания семени, ускоряющая рост проростков и развитие листьев, включает электрофизические способы, в частности обработку посевного материала ультрафиолетовыми источниками излучения. Экологическая безопасность таких технологий делает их актуальными и востребованными в сельскохозяйственном производстве. Использование ртутно-кварцевой лампы БНПО 2-30-001У3,5 для стимулирования физиологических и биохимических процессов в прорастающих семенах позволило выявить морфологические отличия проростков, различную активность ферментов в зависимости от времени экспозиции в процессе облучения. Облучив семена ртутно-кварцевой лампой БНПО 2-30-001У3,5, проводили замачивание в дистиллированной воде и в процессе набухания и наклевывания определяли активность амилазы и каталазы. В ходе эксперимента были установлены оптимальные режимы облучения семян источником УФ-излучения. У семян, подвергавшихся облучению в течение 3 и 5 минут, лабораторная всхожесть повышалась на 4–11%.

Ключевые слова: озимая пшеница, ферменты, амилаза, каталаза, семенной материал, УФ-облучение.



ENZYME ACTIVITY IN GERMINATING SEEDS OF WINTER SOFT WHEAT WHEN THE LIGHT REGIME CHANGES DUE TO UV SEED RADIATION

E. N. Simonova¹, Candidate of Agricultural Sciences, docent, e.n.simonova@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-5665-6699;

N. S. Kravchenko², Candidate of Biological Sciences, researcher of the laboratory of biochemical estimation of breeding material and seed quality, ORCID ID: 0000-0003-3388-1548

¹Branch of the FSBEI HE Moscow State University of Technology and Management named after K. G. Razumovsky (PKU), Rostov-on-Don, Semashko Ave., 55;

²FSBSI "Agricultural Research Center "Donskoy",

347740, Rostov region, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; email: vniizk30@mail.ru

One of the main environmental factors occurring if the integrity of the ozone layer is violated, is natural ultraviolet radiation, which affects plant organisms in the natural environment. In plant breeding in order to stimulate seed germination, mercury-quartz lamps, such as BNPO 2-30-001U3.5 can be used as artificial sources. The article shows that UV treatment of seeds causes changes in the growth and morphogenesis of plants. Ultraviolet radiation, as any stress factor, causes adaptation, including changes in physiological and biochemical processes, as well as an increase of enzymes activity. Stimulation during seed germination, which accelerates seed growth and foliage development, includes electrophysical methods, in particular, seed treatment with ultraviolet radiation. The environmental safety of such technologies makes them relevant and in great demand in agricultural production. The use of a BNPO 2-30-001U3.5 mercury-quartz lamp to stimulate physiological and biochemical processes in germinating seeds made it possible to identify the morphological differences of sprouts, various enzyme activity depending on the exposure time during irradiation. After the seeds had been irradiated with a BNPO 2-30-001U3.5 mercury-quartz lamp, they were soaked in distilled water, and amylase and scavenger enzyme activity was determined during swelling and sprouting. During the experiment, there were identified optimal modes of seed UV irradiation. Laboratory germination of seeds treated with UV radiation for 3-5 minutes ranged from 4 to 11%.

Keywords: winter wheat, enzymes, amylase, scavenger enzyme, seeding material, UV radiation.

Введение. Естественная ультрафиолетовая радиация – один из основных экологических факторов, действующих на растения. Облучение УФ-источниками как простой, энергосберегающий и экологически безопасный метод воздействия на прорастающие семена можно применять для повышения и регуляции всхожести семян в растениеводстве.

Скорость течения процессов роста и морфогенетические изменения могут вызываться различными по природе видами стимулирующих воздействий (Медведев, 2013).

Ферментативная активность, ускоряющая процессы прорастания семян, является проявлением адаптационных механизмов к стрессу, вызванному облучением ультрафиолетовыми источниками – ртутно-кварцевыми лампами.

Регуляция адаптивных реакций ферментными системами в условиях стресса включается в процессе онтогенеза на различных этапах (Чиркова, 2002).

Цель исследований состояла в изучении влияния УФ-облучения на морфофизиологические показатели и активность ферментов прорастающих семян ози-

мой пшеницы, а также в выборе режимов излучения, оптимальных для стимулирования прорастания.

В задачи исследований входило:

– изучение воздействия разных режимов УФ-облучения на морфофизиологические признаки и ферментативную активность прорастающих семян пшеницы;

– выбор оптимальных режимов облучения для стимуляции процесса прорастания семян.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в 2017–2018 гг., в качестве объекта служили семена пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Ростовчанка 5.

Облучение семян УФ-источниками дает выраженный эффект только в том случае, когда семена предварительно замачивали в дистиллированной воде.

Семена пшеницы в количестве 100 шт. помещали в чашку Петри на кружок фильтровальной бумаги и доливали в нее 10 мл дистиллированной воды. Процесс замачивания семян продолжался в течение двух часов. После этого семена подвергали облучению УФ-источником. Затем семена проращивали в термостате в течение семи суток при 20 °С.

Набухшие семена подвергали облучению УФ-источником БНПО2-30-001У3,5 с интенсивностью облучения 30 Вт/м². Были выбраны экспозиции облучения 1, 3, 5 и 7 минут; расстояние от источника излучения до семян составило 25 см. Целью обработки семян было индуцирование активности ферментов. Через семь суток после начала прорастания определяли посевные качества – энергию прорастания и всхожесть семян.

Определение энергии прорастания и всхожести проводили в соответствии с ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести». В процессе прорастания поглощение семенами влаги определяли через 1, 2, 4, 8, 24, 48 часов после замачивания (Ермаков и др., 1972).

Активность амилаз определяли по гидролизу крахмала. Навеску растительного материала (1 г) растирали с 1% раствором NaCl, полученный фильтрат использовали при определении суммарной активности α - и β -амилаз. Затем проводили инкубацию

фильтрата с 2% раствором крахмала и ацетатным буфером (pH = 5,5) при 40 °С в течение 30 мин. Активность α -амилазы определялась при условии инактивации β -амилазы, которая достигалась добавлением уксуснокислого кальция и нагреванием до 70 °С. Интенсивность гидролиза крахмала определяли по реакции с раствором йода. Оптическую плотность оценивали при 595 нм.

Активность β -амилазы определяли как разность суммарной активности амилаз и α -амилазы (Методы биохимического анализа растений, 1978).

Активность каталазы проводили газометрическим методом (Ермаков, 1972).

Результаты и их обсуждение. При набухании и прорастании семян активизируются метаболические процессы, которые связаны с активностью амилазы.

Процесс прорастания семян дифференцирован на четыре этапа: набухание, проклевывание, рост проростка за счет гетеротрофного типа питания и переход к автотрофному типу питания. В течение периода набухания выделены две стадии – физическая и биологическая. На физической стадии временно нарушается целостность клеточных мембран, а вода быстро поступает во внутренние ткани семени, обводняя клетки эндосперма (Мейер и Зейтц, 1982).

Наступление биологической стадии знаменует критическим уровнем оводненности, при котором количество воды становится постоянным и активирует метаболизм, при этом происходит запуск гидролитических процессов, синтезируются белки, усиливается дыхание (Медведев, 2013). При изучении водопоглощения определяли влажность сухих семян, взятых для эксперимента. Было обнаружено, что через один час после замачивания семян пшеницы расхождение во влажности по всем вариантам было незначительным.

Для определения изменения водопоглощения семян в зависимости от времени облучения фиксировали влажность через промежутки в 1, 2, 4, 8, 24 и 48 часов от начала обработки УФ-источником. Было установлено, что продолжительность облучения семян УФ-источником излучения влияет на интенсивность поглощения воды семенами (табл. 1).

1. Действие УФ-излучения на содержание воды в прорастающих семенах, %
1. The effect of UV radiation on the water percentage in germinating seeds, %

Время замачивания, ч	Время обработки				
	контроль	1 минута	3 минуты	5 минут	7 минут
0	14,3±0,1	14,5±0,1	14,5±0,1	14,5±0,1	14,5±0,1
1	23,9±0,2	24,3±0,1	24,3±0,1	24,4±0,1	24,2±0,1
2	41,3±0,6	42,9±0,2	46,6±0,3	48,4±0,6	45,1±1,0
4	52,8±0,5	56,2±1,2	58,6±0,9	59,6±0,5	57,2±1,0
8	65,8±0,2	69,6±0,2	72,6±1,2	72,8±0,2	70,0±1,2
24	68,5±0,3	71,0±0,7	73,0±0,2	73,1±1,0	71,1±0,1
48	72,2±0,7	73,5±0,7	75,4±0,8	78,7±0,9	75,1±0,6

Анализ данных, представленных в таблице 1, позволил сделать заключение о том, что наиболее интенсивно поглощали воду семена, подвергшиеся обработке в течение 3 и 5 минут. В трехминутном варианте облучения семян через 2 ч влажность семян была выше, чем в контроле, на 12,8%, а в пятиминутном – на 17,1%, в то время как в одноминутном варианте обработки влажность семян увеличилась на 3,8%, а в семи минутном – на 9,2% в сравнении с контролем.

Водопоглощение семян на отрезке времени 4 и 8 ч имело сходную динамику. Изменение водопоглоще-

ния по вариантам было невыраженным. Через 24 ч отмечалось изменение в характере водопоглощения. Самая высокая влажность семян была в вариантах после трех- и пятиминутного облучения по сравнению с контролем. Таким образом, очевидно изменение водопоглощения семян пшеницы под действием УФ-излучения. По прошествии первых суток наблюдается снижение уровня водопоглощения в опытных вариантах, что, вероятно, связано с понижением осмотического потенциала за счет торможения деградации биополимеров (Дубров, 1963).

Для выявления целесообразности обработки семян ультрафиолетовым источником облучения проводили лабораторные исследования посевных качеств семян после обработки источником УФ-излучения. Экспозиция обработки была выбрана от 1 до 7 минут.

Было установлено, что энергия прорастания и лабораторная всхожесть изменяются в результате воздействия на семена источником УФ-излучения. Масса ростков также существенно отличалась от контроля (табл. 2).

2. Посевные качества семян и масса ростков озимой пшеницы Ростовчанка 5 после обработки УФ

2. Sowing qualities of seeds and mass of winter wheat sprouts "Rostovchanka 5" after UV treatment

Вариант и экспозиция	Энергия прорастания, %	Лабораторная всхожесть, %	Масса ростков сырых, г
Контроль	61	85	5,02
1 минута	69	89	5,43
3 минуты	78	92	5,66
5 минут	79	94	5,67
7 минут	77	90	5,52
НСР ₀₅	2,9	3,1	0,21

Обработка семян с экспозицией от 1 до 7 минут свидетельствовала о повышении лабораторной всхожести в трехминутном варианте на 8,2% и в пятиминутном – на 10,5% в сравнении с контролем. В этих же вариантах обработки семян масса сырых ростков была выше в сравнении с контролем на 12,6 и 12,9% соответственно. Наиболее эффективно происходило увеличение массы ростков при обработке в течение 3 и 5 минут. Энергия прорастания семян при обработке в течение 3 и 5 минут увеличивалась по сравнению с контролем на 27,8 и 29,5%.

В результате проведенных исследований было установлено, что варианты обработки семян в течение

3 и 5 минут наиболее оптимальны в сравнении с остальными вариантами облучения.

Одним из основных ферментов, участвующих в процессе прорастания семян, является амилаза. Процесс гидролиза крахмала начинается при влиянии амилаз, интенсивное образование амилаз начинается с момента прорастания зерен злаков (Медведев, 2013). В процессе исследования последствий облучения семян пшеницы УФ-источником излучения изучали активности амилаз пшеницы в разных диапазонах облучения. В результате было установлено, что активность амилаз повышается при 3- и 5-минутном облучении семян по сравнению с контролем (табл. 3).

3. Активность амилазы в семенах озимой пшеницы при прорастании, мг гидролизованного крахмала за 30 мин/г сырой массы

3. Amylase activity in winter wheat seeds during germination, mg of hydrolyzed starch per 30 min/g of wet weight

Вариант	Время, сут				
	1	2	3	4	5
Контроль	19,47	43,37	56,68	70,41	90,16
1	20,59	44,81	63,38	75,52	93,56
3	22,98	51,36	76,58	101,53	109,53
5	23,94	53,58	92,98	111,84	112,66
7	21,63	49,79	71,21	83,91	107,54

Активность амилазы проявилась уже по прошествии первых суток прорастания; ко вторым суткам активность амилазы увеличилась в варианте с обработкой 3 мин на 19% по сравнению с контролем, а в варианте с 5-минутной обработкой – на 23,5%. Максимум активности амилазы в вариантах с 3- и 5-минутной обработкой был отмечен на третьи сутки с начала прорастания семян пшеницы и превысил значения в контроле на 58,6 и 64,1% соответственно. В течение четвертых суток активность амилазы начала снижаться, но оставалась еще достаточно высокой и превышала значения в контроле на 44 и 58,8% соответственно.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что трех- и пятиминутное облучение семян увеличивает скорость активации амилазы по сравнению с другими вариантами опыта, а прорастающий зародыш интенсивнее использует запасные вещества эндосперма, что в итоге повышает посевные качества семян в этих вариантах по сравнению с остальными вариантами.

Каталаза, участвующая в процессе дыхания, содержится в покоящихся семенах в значительно боль-

ших количествах, чем амилаза. Активность каталазы увеличивается параллельно интенсивности дыхания прорастающих семян, которое объединяет все процессы жизнедеятельности – белковый, углеводный и липидный обмен.

В результате проведенных исследований влияния обработки семян озимой пшеницы Ростовчанка 5 УФ-источником облучения на активность каталазы в прорастающих семенах выявлено, что высшая активность фермента – до максимальных значений происходит на протяжении первых семидесяти двух часов, когда она возрастает в 7,3–7,5 раза по сравнению с первыми двенадцатью часами проращивания, после чего снижается. Обработка семян пшеницы перед проращиванием УФ-источником излучения повысила активность каталазы на третьи сутки с начала прорастания в вариантах обработки семян в течение 3 и 5 минут, активность каталазы возрастала на 6,3 и 17,7% соответственно по сравнению с контролем. Далее, на четвертые сутки с начала прорастания содержание каталазы в семенах пшеницы начало

снижаться. Таким образом, установлено, что амилолитические ферменты достигают максимума своих значений на третьи сутки с момента прорастания семян, после чего их уровень снижается. К девяноста шести часам после начала прорастания активность снизилась как в контроле, так и во всех вариантах опыта. Усиление ферментной активности обусловле-

но ускорением физиолого-биохимических процессов, протекающих в прорастающих семенах в результате обработки семян УФ-источником излучения. Анализируя полученные результаты, можно констатировать, что высокая активность каталазы при обработке семян свидетельствует об усилении процессов синтеза в проростках пшеницы (Шакирова, 2001).

4. Активность каталазы в проростках озимой пшеницы, мк/моль H_2O_2 , разложившейся за 1 мин в расчете на 1 г сухого материала

4. Scavenger enzyme activity in winter wheat sprouts, micron/mol of H_2O_2 decomposed in 1 minute per 1 g of dry material

Вариант	Время, ч				
	12	24	48	72	96
Контроль	10,66	19,78	53,06	78,72	59,45
1	11,05	21,62	56,25	81,58	61,99
3	13,33	22,39	58,27	83,68	68,14
5	12,56	24,57	63,92	92,70	70,44
7	11,98	22,91	62,83	90,36	64,60

Выводы. Под действием УФ-излучения происходит изменение морфофизиологических параметров прорастающего семени. Степень этих изменений зависит от вида и интенсивности воздействия. Установлено, что интенсивную активацию ростовых процессов у пшеницы вызывает экспозиция облучения УФ-источником в течение 3 и 5 минут.

Лабораторная всхожесть семян при обработке семян УФ-облучением ртутно-кварцевым источником УФ-излучения БНПО2-30-001У3,5 увеличивалась в трехминутном варианте на 8,2% и в пятиминутном – на 10,5% в сравнении с контролем. В этих же вариантах обработки семян масса сырых ростков была выше в сравнении с контролем на 12,6 и 12,9%. Таким образом, для семян пшеницы были выявлены режимы обработки, к которым они более восприимчивы, а именно 3 и 5 минут.

Активность амилазы проявилась уже по прошествии первых суток прорастания. Максимум активности амилазы в вариантах с 3- и 5-минутной обработкой был отмечен на третьи сутки с начала прорастания семян пшеницы и превысил значения в контроле на 58,6 и 64,1% соответственно.

При изучении активности каталазы было установлено, что высшая активность фермента до максимальных значений происходит на протяжении первых 72 ч, когда она возрастает в 7,3–7,5 раза по сравнению с первыми 20 ч прорастания, после чего снижается во всех вариантах опыта. Но на третьи сутки с начала прорастания в вариантах обработки семян в течение 3 и 5 минут активность каталазы возрастала на 6,3 и 17,7% соответственно по сравнению с контролем.

Библиографические ссылки

1. Веселовский В. А., Веселова Т. В., Чернавский Д. С. Стресс растения. Биофизический подход // Физиология растений. 1993. Т. 40, № 4. С. 553–557.
2. Дубров А. П. Действие ультрафиолетовой радиации на растения. М.: АН СССР, 1963. 123 с.
3. Медведев С. С. Физиология растений. СПб.: БВХ, Петербург, 2013. 336 с.
4. Мейер А., Зейтц Э. Ультрафиолетовое излучение. М.: Наука, 1982. 63 с.
5. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 244 с.
6. Шакирова М. Ф. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.

References

1. Veselovskij V. A., Veselova T. V., Chernavskij D. S. Stress rasteniya. Biofizicheskij podhod [Stress of plants. Biophysical approach] // Fiziologiya rastenij. 1993. T. 40, № 4. S. 553–557.
2. Dubrov A. P. Dejstvie ul'trafioljetovoj radiacii na rasteniya [The effect of ultraviolet radiation on plants]. M.: AN SSSR, 1963. 123 s.
3. Medvedev S. S. Fiziologiya rastenij [Plant physiology]. SPb.: BVH, Peterburg, 2013. 336 s.
4. Mejer A., Zejtc Eh. Ul'trafioljetovoe izluchenie [Ultraviolet radiation]. M.: Nauka, 1982. 63 s.
5. Chirkova T. V. Fiziologicheskie osnovy ustojchivosti rastenij [Physiological basis of plant resistance]. SPb.: Izd-vo SPb. un-ta, 2002. 244 s.
6. Shakirova M. F. Nespetsificheskaya ustojchivost' rastenij k stressovym faktoram i ee reguljacija [Non-specific resistance of plants to stress factors and its regulation]. Ufa: Gilem, 2001. 160 s.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.