

УДК 581.524.1:631.8

ПЕРЕДПОСІВНА ОБРОБКА НАСІННЯ ПІДВИЩУЄ СТІЙКІСТЬ ДО АЛЕЛОПАТИЧНОГО СТРЕСУ

Н.П. ДІДИК

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка Національної академії наук України
01014 Київ, вул. Тимірязєвська, 1
e-mail: nataliya_didyk@ukr.net

Вивчено вплив синтетичних аналогів алелопатично активних речовин (кумарину, фенольних кислот, амінокислот, карбонових кислот) і фітогормонів (кінетину, 6-бензиладеніну) на адаптацію крес-салату (*Lepidium sativum* L.) й пшениці (*Triticum aestivum* L.) до алелопатичного стресу, який моделювали розчином кумарину. Встановлено, що в результаті передпосівної обробки насіння тест-рослин 30–300 мкМ розчинами амінокислот, карбонових і фенольних кислот стійкість проростків до фітотоксичних доз кумарину зростала. За вищих концентрацій (1000–3000 мкМ) фенольні речовини посилювали інгібувальний вплив кумарину на схожість насіння і приріст коренів проростків. Для карбонових та амінокислот не виявлено інгібування показників росту й розвитку тест-рослин у межах дослідженого діапазону концентрацій.

Ключові слова: *Lepidium sativum* L., *Triticum aestivum* L., алелопатичний стрес, адаптація, передпосівна обробка насіння, фенольні кислоти, кумарин, цитокініни, карбонові кислоти, амінокислоти.

Згідно з визначенням Міжнародного алелопатичного товариства [9], алелопатія — «це будь-який процес, котрий включає вторинні метаболіти, що продукуються рослинами, водоростями, бактеріями та грибами, які впливають на ріст і розвиток сільськогосподарських і біологічних систем». Доведено, що алелопатичний фактор постійно впливає на життєдіяльність рослин, починаючи з проростання насіння і до їх відмирання як у природних, так і штучних фітоценозах. Алелопатично активні речовини залежно від їх концентрації та умов середовища можуть спричинювати стимулювальну або інгібувальну дію на ріст і розвиток, а також на різні метаболічні процеси, маючи безліч молекулярних мішеней у рослинах-акцепторах [2, 11].

Найбільш поширеною і вивченою групою алелопатично активних речовин є фенольні сполуки. Фітотоксичні продукти розкладання рослинних решток фенольної природи завжди містяться у ґрунті природних і штучних рослинних угруповань, спричинюють негативні екологічні та економічні наслідки, такі як ґрунтовтома, саморозрідження, порушення біорізноманіття, небажані сукцесії та інвазії алелопатично активних бур'янів [11]. Фенольні алелопатично активні речовини добре адсорбуються глинистою фракцією ґрунту, формують хелатні комплекси із солями металів, що забезпечує їх тривале утримання в прикореневому шарі ґрунту та вплив на ріст і розвиток рослин [11].

Незважаючи на наявність великої кількості відомостей про фітотоксичні властивості фенольних алелопатично активних сполук, можливості подолання їх негативного ефекту дослідники приділяють незначну увагу. Відомо, що інокуляція коренів рослин деякими мікроорганізмами й мікоризоутворювальними грибами може підвищувати їх толерантність до фітотоксичних алелохімікатів [6].

Передпосівна обробка насіння є важливим агротехнічним прийомом, який дає змогу поліпшити схожість, пришвидшити проростання насіння, підвищити стійкість проростків до абіотичних і біотичних стресових чинників [13, 14]. Ефективність передпосівної обробки насіння рослин-акцепторів розчинами CaCl_2 , гіберелової й саліцилової кислот (100–300 мг/л) для підвищення стійкості проростків до алелопатичного стресу досліджено в роботах [5, 10, 13–15]. Фізіологічні механізми захисного ефекту цих речовин не вивчені. Висловлювалася думка, що передпосівна обробка насіння такими сполуками активує антиоксидантні захисні системи [5, 10, 13–15].

Метою наших досліджень було вивчення впливу передпосівної обробки насіння тест-рослин синтетичними аналогами алелопатично активних сполук і фітогормонів на подальшу стійкість проростків до алелопатичного стресу. Останній моделювали розчином кумарину (синтетичного аналога відомої й поширеної серед рослин алелопатично активної сполуки).

Методика

Для оцінювання алелопатичного ефекту кумарину застосовано біотест на схожість насіння і приріст коренів крес-салату (*Lepidium sativum* L.) та модифікований метод Нейбауера—Шнейдера на проростках пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Дарунок Поділля) за [2].

Попередньо ми проаналізували концентраційну залежність фітотоксичного ефекту розчину кумарину щодо крес-салату і пшениці. Встановлено, що ця речовина пригнічує ріст коренів крес-салату й пшениці на 50 % за концентрації відповідно 100 і 1000 мкМ. Такі концентрації застосовували в подальших дослідженнях.

Вивчали захисний ефект обробки насіння крес-салату й пшениці розчинами кумарину, фенольних кислот, амінокислот, карбонових кислот, фітогормонів концентраціями 3–3000 мкМ. Насіння крес-салату і пшениці замочували в розчинах діючих речовин або у стерилізованій водопровідній воді (контроль) на 3 год. Після цього насіння крес-салату переносили в чашки Петрі на фільтрувальний папір, змочений розчином кумарину концентрацією 100 мкМ. Насіння пшениці розкладали на піщаний субстрат, змочений розчином кумарину концентрацією 1000 мкМ. Рослини вирощували в контрольованих лабораторних умовах: температура — 22–24 °С, розсіяне сонячне світло, вологість субстрату (для пшениці) — 60 % повної вологоємності.

Успішність адаптації до алелопатичного стресу оцінювали за показниками схожості насіння і приросту коренів крес-салату; довжини та маси сухої речовини надземної частини й кореневої системи пшениці.

Результати досліджень оброблено статистично методом однофакторного дисперсійного аналізу за допомогою програми Statistica 10.0. Дані, наведені в таблицях — групові середньозважені. Вірогідність впливу чинників оцінено за рівнем значущості (P) і критерієм Фішера (F).

Результати та обговорення

Кумарин (2Н-хромен-2-он, або 2Н-1-бензопіранон-2) є лактоном *o*-оксикоричної кислоти. Ця сполука та її похідні — дуже поширені вторинні метаболіти вищих рослин. Їх виявлено більш як у 200 видів, які належать до 37 родин. Найбільш поширені вони серед рослин родин селерових, рутових, бобових, рідше — серед видів родин айстрових, пасльонових, злакових, каштанових, губоцвітих, маренових. Фізіологічна роль кумаринів остаточно не встановлена [3]. Кумарин та його похідні — відомі інгібітори проростання насіння й росту рослин. Вважають, що вони беруть участь у регуляції росту рослин як антагоністи ауксинів, впливають на клітинне дихання, спричинюють значні зміни у структурі й функціонуванні мітохондрій. Різні види рослин виявляють різну чутливість до екзогенних кумаринів [7, 11].

У наших дослідженнях крес-салат виявляв значно більшу чутливість до кумарину, ніж пшениця. Обробка насіння крес-салату розчинами низки досліджених речовин стимулювала схожість і стійкість проростків до аделопатичного стресу, який моделювали розчином кумарину. Серед фенольних сполук таку властивість мали кумарин, гентизинова, саліцилова та параоксibenзойна кислоти концентраціями 30—300 мкМ (табл. 1, 2). Однак у разі обробки насіння крес-салату фенольними кислотами або кумарином вищих концентрацій (1000—3000 мкМ) стійкість проростків до аделопатичного стресу знижувалась.

Отримані нами результати щодо фізіологічної активності фенольних кислот узгоджуються з висновками інших авторів [5, 13—15], які встановили, що обробка насіння саліциловою кислотою концентрацією 100—300 мг/л поліпшувала адаптацію проростків *Trifolium rigidum*, *Onobrychis sativa*, *Lathyrus sativus* до аделопатичного стресу, який моделювали водними екстрактами із сировини *Eucalyptus camaldulensis*, *Juglans regia*, відомих високим аделопатичним потенціалом.

На прикладі низки видів тест-рослин встановлено, що аделопатично активні речовини фенольної природи концентрацією понад 1000 мкМ пригнічують проростання насіння і ріст проростків. Серед первинних ефектів цих сполук на рослинні клітини зазначено індукцію окисного стресу, продукування вільних радикалів кисню й пероксиду водню, пригнічення ферментів захисної антиоксидантної системи [8, 11]. У низьких концентраціях ці речовини активують захисні антиоксидантні системи в рослинних клітинах. Крім того, встановлено, що екзогенні фенолкарбонові кислоти можуть впливати на процеси синтезу й деструкції ауксинів, цитокінінів, етилену [11].

Серед досліджених амінокислот і карбонових кислот вірогідно стимулювали ріст та розвиток крес-салату за умов аделопатичного стресу γ -аміномасляна, *DL*-аспарагінова, бурштинова, винна кислоти (див. табл. 2). Найефективніше стимулювали стійкість крес-салату до аделопатичного стресу бурштинова, *DL*-аспарагінова кислоти концентрацією 10—100 мкМ; винна, γ -аміномасляна кислоти концентрацією 100—1000 мкМ. На відміну від фенольних сполук для вивчених карбонових та амінокислот не виявлено інгібування показників росту й розвитку крес-салату в межах дослідженого діапазону концентрацій. Тому ми вважаємо зазначені карбонові та амінокислоти перспективними для подальших досліджень можливостей їх застосування для розробки технологій підвищення адаптації рослин до аделопатичного стресу.

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив обробки насіння крес-салату фенольними кислотами на його схожість і ріст проростків (% контролю) на фоні фітотоксичної концентрації кумарину (100 мкМ)

Концентрація, мкМ	Схожість насіння	Довжина кореня	Концентрація, мкМ	Схожість насіння	Довжина кореня
Стерилізована вода			Стерилізована вода		
0	44,6	41,9	0	57,1	51,9
Саліцилова			Кавова		
30	71,0	73,1	30	55,5	40,0
100	68,3	71,1	100	53,8	44,0
300	68,3	52,6	300	58,3	40,0
1000	40,4	41,0	1000	26,3	17,2
3000	25,0	40,6	3000	21,7	9,2
Параоксibenзойна			Хлорогенова		
30	74,6	57,2	30	51,9	52,9
100	64,6	60,0	100	61,1	59,7
300	61,9	50,7	300	56,5	51,2
1000	33,2	38,8	1000	18,2	44,3
3000	20,8	48,8	3000	15,0	50,6
Гентизинова			Ферулова		
30	78,3	72,2	30	40,5	42,3
100	79,2	62,0	100	36,9	41,8
300	69,5	55,6	300	29,9	40,8
1000	36,4	50,4	1000	24,3	36,9
3000	28,2	49,7	3000	20,0	36,9
Бузкова			Корична		
30	46,1	42,2	30	54,6	58,3
100	45,8	43,1	100	45,5	54,4
300	31,5	40,2	300	45,5	44,4
1000	39,5	38,4	1000	33,7	22,2
3000	36,0	22,2	3000	27,7	20,7
НІР _{0,05}	2,7	2,2		2,6	2,3

Позитивний вплив екзогенних амінокислот на стійкість рослин до низки стресових чинників продемонстрували автори праць [12, 16]. Вони спостерігали зростання вмісту поліамінів, низькомолекулярних цукрів та амінокислот у тканинах оброблених рослин [16]. Ендогенні поліаміни та амінокислоти виконують захисну функцію, діють як осмоліти, регулюють транспорт іонів, відкриття продихів, детоксикують деякі токсичні речовини. Крім того, ці сполуки впливають на синтез та активність деяких ферментів, експресію генів і редокс-гомеостаз [12].

Обробка насіння крес-салату синтетичними аналогами цитокінінів (кінетином, 6-бензиладеніном) знижувала його адаптивний потенціал до аделопатичного стресу (див. табл. 2). На нашу думку, це пов'язано з тим, що ці регулятори росту стимулюють поглинальну здатність рослин, у то-

ПРЕДПОСЕВНАЯ ОБРАБОТКА СЕМЯН

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив обробки насіння крес-салату карбоновими кислотами, амінокислотами, цитокінінами, кумарином на його схожість і ріст проростків (% контролю) на фоні фітотоксичної концентрації кумарину (100 мкМ)

Концентрація, мкМ	Схожість насіння	Довжина кореня	Концентрація, мкМ	Схожість насіння	Довжина кореня
Стерилізована вода			Стерилізована вода		
0	52,8	56,8	0	56,2	61,4
γ-Аміномасляна			Аскорбінова		
3	47,2	59,9	3	55,7	62,4
10	49,4	83,3	10	53,9	59,9
30	55,6	100,5	30	56,1	62,3
100	65,8	107,2	100	54,6	63,1
1000	72,4	116,3	1000	49,8	60,5
DL-Аспарагінова			Бурштинова		
3	55,6	60,1	3	64,8	76,4
10	145,8	77,2	10	106,2	82,5
30	99,4	109,4	30	93,0	97,2
100	90,3	106,9	100	84,8	72,5
1000	64,2	114,2	1000	82,5	74,3
Кінетин			Винна		
3	50,1	55,3	3	58,5	104,2
10	67,1	49,8	10	56,8	83,3
30	63,4	42,4	30	71,4	86,4
100	42,3	37,9	100	82,3	84,7
1000	35,3	38,2	1000	88,2	87,5
6-Бензиладенін			Кумарин		
3	55,7	56,6	3	62,5	80,1
10	54,4	54,8	10	131,9	74,6
30	58,1	56,9	30	104,2	96,5
100	52,3	52,4	100	56,4	61,5
1000	44,5	46,8	1000	29,3	39,7
НІР _{0,05}	2,7	3,1	НІР _{0,05}	2,6	2,3

му числі й щодо кумарину [1]. Сьогодні природні цитокініни та їх синтетичні аналоги широко застосовують як стимулятори росту в сільсько-му господарстві. Згідно з результатами наших досліджень, алелопатичний стрес негативно впливає на ефективність таких препаратів. Це необхідно враховувати при розробці рекомендацій щодо їх застосування.

Найефективніші з досліджених речовин (γ-аміномасляна, DL-аспарагінова, бурштинова, гентизинова, саліцилова кислоти і кумарин) ми протестували також щодо їх здатності підвищувати стійкість проростків до кумарину на насінні й проростках пшениці за методом Нейбауера—Шнейдера. Встановлено, що всі вони підвищували стійкість проростків пшениці до кумарину (табл. 3). Найефективнішою виявилась γ-аміномасляна кислота, яка в дослідженому діапазоні концент-

ТАБЛИЦЯ 3. Вплив обробки насіння пшениці синтетичними аналогами аделопатично активних речовин на подальшу стійкість проростків до аделопатичного стресу

Діюча речовина	Концентрація, мкМ	Маса сухої речовини, % контролю		Довжина, % контролю	
		Надземна частина	Корінь	Надземна частина	Корінь
Стерилізована вода	0	58,1	56,3	59,3	50,0
γ-Аміномасляна кислота	10	94,9	105,7	95,3	104,3
	100	93,2	110,4	98,3	115,2
	300	95,4	113,1	92,0	110,4
	1000	96,4	115,4	91,1	112,3
	3000	97,3	104,4	95,4	106,2
DL-Аспарагінова кислота	10	78,8	82,2	80,3	74,1
	100	83,1	85,2	87,4	78,8
	300	87,2	80,3	87,6	80,1
	1000	82,2	89,1	84,5	84,2
	3000	83,2	94,3	97,0	86,4
Бурштинова кислота	10	52,3	68,0	49,5	54,1
	100	58,7	68,1	68,1	69,3
	300	70,0	71,2	72,2	72,7
	1000	69,4	74,1	70,3	71,2
	3000	73,2	74,0	77,1	75,8
Кумарин	10	83,3	88,2	92,1	92,3
	30	86,3	84,1	85,2	89,2
	100	91,3	83,3	90,2	86,3
	300	84,2	76,3	88,8	76,4
	1000	40,4	40,5	42,1	35,3
Гентизинова кислота	10	89,4	83,1	86,2	76,8
	30	87,4	82,7	85,3	88,3
	100	85,1	87,7	84,4	85,8
	300	88,4	85,2	89,1	79,7
	1000	82,2	84,3	80,3	80,6
Саліцилова кислота	10	74,9	70,7	79,3	76,3
	30	75,2	78,4	73,3	72,2
	100	78,4	79,1	74,0	75,4
	300	85,4	81,3	87,1	87,3
	1000	86,1	87,7	82,5	80,4
НІР _{0,05}		2,8	2,4	3,1	3,7

рацій повністю компенсувала негативний вплив кумарину на ріст як кореневої, так і надземної частин. γ-Аміномасляна кислота — непротеїногенна амінокислота, важливий компонент обміну азотистих сполук у тканинах рослин. Функції цієї сполуки в рослинних клітинах останнім

часом активно досліджуються. Вміст γ -аміномасляної кислоти в багатьох рослинах зростає під впливом абіотичних стресових чинників: анаеробіозу, дефіциту вологи, мінеральних речовин, низької температури, радіації, механічних ушкоджень. Установлено, що ця амінокислота є модулятором іонного транспорту в рослинах і бере участь у передачі стресових сигналів [4].

Ми вважаємо перспективним подальше вивчення захисного ефекту обробки насіння культурних рослин дослідженими сполуками з метою підвищення їх стійкості до фітотоксичних речовин.

Таким чином, передпосівну обробку насіння розчинами фенольних (гентизинової, саліцилової, параоксibenзойної), карбонових (бурштинової, винної) та амінокислот (γ -аміномасляної, *DL*-аспарагінової) в мікромолярних концентраціях можна застосовувати для підвищення стійкості проростків до алелопатичного стресу. Обробка насіння тест-рослин синтетичними аналогами цитокинінів (кінетином, 6-бензиладеніном) знижує адаптивний потенціал проростків до алелопатичного стресу. Тому за умов алелопатичної ґрунтової застосування цих фітогормонів для обробки культурних рослин слід обмежувати.

1. *Архипова Т.Н., Анохина Н.Л.* Влияние инокуляции цитокинин-продуцирующими микроорганизмами на рост растений пшеницы при повышении уровня минерального питания // Физиология растений. — 2009. — **56**, № 6. — С. 899—905.
2. *Гродзінський А.М.* Основи хімічної взаємодії рослин. — К.: Наук. думка, 1973. — 205 с.
3. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. — М.: Наука, 1993. — 272 с.
4. *Судачкова Н.Е., Милютин И.Л., Романова Л.И., Жданова К.О.* Непротеиногенные аминокислоты в тканях основных лесобразующих видов хвойных Сибири // Хвойные бореальной зоны. — 2008. — **XXV**, № 3. — С. 216—222.
5. *Armaki M.A.* Assessment of seed priming on germination improvement of *Lathyrus sativus* under allelopathic components of *Juglans regia* // Int. J. Adv. Biotechnol. Res. — 2016. — **7**, N 4. — P. 178—184.
6. *Bajwa R., Javaid A., Haneef B.* EM and VAM technology in Pakistan: Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to co-inoculation with effective microorganisms (EM) and VA mycorrhiza under allelopathic stress // Pakistan J. Bot. — 1999. — **31**. — P. 387—396.
7. *Chattha F.A., Mehr-un-Nisa, Munawer A.M., Kousar S.* Coumarin-based heteroaromatics as plant growth regulators / Plant Grow., Prof. Everlon Rigobelo (Ed.), InTech, 2016.
8. *Cruz-Ortega R., Lara-Nunez A., Anaya A.* Allelochemical stress can trigger oxidative damage in receptor plants mode of action of phytotoxicity // Plant Signal. Behav. — 2007. — **2**, N 4. — P. 269—270.
9. *IAS — International Allelopathy Society.* Constitution and Bylaw of IAS. Cadiz-Spain, IAS Newsletter, 1996. — 5 p.
10. *Khalig A., Matloob A., Mahmood S., Wahid A.* Seed pre-treatments help improve maize performance under sorghum allelopathic stress // J. Crop. Improvement. — 2013. — **27**, N 5. — P. 586—605.
11. *Li Z.-H., Wang Q., Ruan X. et al.* Phenolics and Plant Allelopathy // Molecules. — 2010. — **15**. — P. 8933—8952.
12. *Rai V.K.* Role of amino acids in plant responses to stresses // Biol. Plant. — 2002. — **45**, N 4. — P. 481—487.
13. *Saberi M., Davari A., Ebrahimzadeh A. et al.* Influence of chemical stimulators to germination improvement, support and resistant of *Trifolium rigidum* species under stress allelopathic components of *Eucalyptus camaldulensis* // Int. J. Agricult. Crop. Sci. — 2013. — **5**, N 14. — P. 1563—1570.
14. *Saberi M., Shahriari A.R., Tarnian F. et al.* Influence of seed priming on germination and seedling range species under allelopathic components // Front. Agricult. in China. — 2011. — **5**, N 3. — P. 310—321.
15. *Saberi M., Tarnian F.* Effect of seed priming on germination improvement of germination *Vicia villosa* under allelopathic components of *Eucalyptus camaldulensis* // Plant Breed and Seed Sci. — 2012. — **66**. — P. 99—108.

16. Zeid I.M. Effect of arginine and urea on polyamines content and growth of bean under salinity stress // Acta Physiol. Plant. — 2009. — 31, N 1. — P. 65—70.

Отримано 25.04.2017

ПРЕДПОСЕВНАЯ ОБРАБОТКА СЕМЯН ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ К
АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

Н.П. Дидык

Национальный ботанический сад им. М.М. Гришко Национальной академии наук
Украины, Киев

Изучено влияние синтетических аналогов аллелопатически активных веществ (кумарина, фенольных кислот, аминокислот, карбоновых кислот) и фитогормонов (кинетина, 6-бензилладенина) на адаптацию кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к аллелопатическому стрессу, который моделировали раствором кумарина. Установлено, что в результате предпосевной обработки семян тест-растений 30—300 мкМ растворами аминокислот, карбоновых и фенольных кислот устойчивость проростков к фитотоксическим дозам кумарина возросла. При более высоких концентрациях (1000—3000 мкМ) фенольные вещества усиливали ингибирующее влияние кумарина на всхожесть семян и прирост корней проростков. Для карбоновых и аминокислот не выявлено ингибирование показателей роста и развития тест-растений в пределах исследованного диапазона концентраций.

SEED PRETREATMENT IMPROVE RESISTANCE TO ALLELOPATHIC STRESS

N.P. Didyk

M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine
1 Tymiryazevska St., Kyiv, 01014, Ukraine

The effect of synthetic analogues of allelochemicals (coumarin, phenolic acids, amino acids, carboxylic acids) and phytohormones (kinetin, 6-benzyladenin) on adaptation of cress (*Lepidium sativum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) to the allelopathic stress modeled by coumarin solution was studied. The seed pretreatment with the solutions of amino, carboxylic and phenolic acids in low concentrations stimulated seedling resistance to phytotoxic doses of coumarin. At higher concentrations (1000—3000 μ M) phenolic substances enhanced coumarin inhibitory effect on seed germination and root growth of seedlings. Carboxylic and amino acids did not display any inhibition on the characteristics of the test-plants growth and development within the tested range of concentrations.

Key words: *Lepidium sativum* L., *Triticum aestivum* L., allelopathic stress, adaptation, seed pretreatment, phenolic acids, coumarin, cytokinins, carboxylic acids, amino acids.