

С.Н. РАССОХА

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины  
Украина, 01014 г. Киев, ул. Тимирязевская, 1

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЭМИСТИМА С НА РАЗНЫХ ФАЗАХ ПРОРАСТАНИЯ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

*В лабораторных условиях изучали чувствительность генома проростков гороха сорта Рапорт к биостимулятору эмистиму С. На всех фазах клеточного цикла наблюдается чувствительность к физиологически активным веществам, входящим в состав эмистима С. Действие этой активности проявляется в дозе-эффекте и подчинено правилу Арндта-Шульца, что выражается в периодических спадах и подъемах пиков активности.*

В комплексе мероприятий, направленных на повышение продуктивности сельскохозяйственных культур, важное место занимает управление процессами роста растений с помощью биостимуляторов, обладающих высокой биологической активностью.

Разработка новых способов применения регуляторов роста природного происхождения, содержащих биологически активные вещества, в сельском хозяйстве основывается на характере превращения этих веществ в тканях и клетках и вызываемых ими изменений в метаболизме растений.

Одним из эффективных, экологически безопасных регуляторов роста растений является эмистим С. Изучение Госкомиссией Украины и Институтом здоровья этого биостимулятора подтвердило его высокую экологическую чистоту и безопасность для людей, животных, растений и окружающей

среды. Поэтому применение его в сельском хозяйстве не только целесообразно, но и экономично. Он испытан на 12 культурных растениях [2, 6, 7].

Имеющиеся экспериментальные данные по изучению механизма действия эмистима С на растения недостаточны для полного представления о природе взаимодействия растения с регуляторами такого типа. В связи с этим возникает необходимость более глубокого изучения влияния препарата на растения, чтобы разработать теоретические основы рационального применения эмистима С и других стимуляторов.

Целью нашей работы было показать активность действия эмистима С в широком спектре концентраций разведений на разных фазах клеточного цикла корешков проростков гороха.

Троян с соавторами показали [12], что динамика изменений структурного и функционального состояний генома имеет сортовую



и видовую специфику, чем может быть обусловлена необходимость разной продолжительности обработки семян для получения стимулирующего эффекта. Высказано мнение [1, 3, 14], что важная роль в модели клеточного цикла принадлежит выяснению механизма действия фитогормональных соединений и физиологически активных рострегулирующих веществ, являющихся мощным фактором увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур.

В нашей работе на примере корешков проростков гороха (сорт Рапорт) показана активность действия элистима С на разных фазах прорастания. Известно временное деление клеточного цикла по фазам, которое заключается в следующей схеме [10–12, 15–20]:

Сухое семя → G<sub>0</sub> → G<sub>1</sub> → S → G<sub>2</sub> → Митоз  
 0 ч      3–6 ч   16–19 ч   28–31 ч      38–41 ч

Используя эту схему, мы получили разные варианты действия элистима С на примере фаз клеточного цикла гороха.

### Методика

Благодаря высокой чувствительности в период активации хроматина прорастающих семян гороха [11] и максимальной восприимчивости к влиянию физиологически активных веществ клетки зародыша могут быть использованы для подбора эффективных концентраций физиологически активных веществ — стимуляторов роста, в частности биостимулятора элистима С.

В работе соблюдались такие экспериментальные условия:

1. Семена замачивались в постоянном объеме воды до половины высоты семени при постоянной температуре.

2. Для равномерного прорастания отбиралась фракция однородно набухших семян через три-четыре часа после инкубации в воде.

3. Для отбора клеток в период выхода из состояния покоя использовались полностью набухшие семена без признака роста зародыша.

4. Для отбора клеток в G<sub>0</sub>-фазе использовались семена с признаками видимого роста зародыша, но до проклевывания, а для отбора клеток, вступающих в G<sub>1</sub>-фазу, — семена в момент проклевывания.

5. Для получения максимального количества клеток в S-фазе длина проклюнувшегося корешка должна быть в пределах 0,5–0,8 см, а в митозе — 1,2–1,5 см.

Четко устанавливался размер меристемы корня гороха, изменяющийся по мере продвижения клеток по фазам цикла и в зависимости от сорта семян, а также временные параметры отдельных фаз, имеющие сортовую специфику. При индукции прорастания гидратация клеток меристем гороха происходит в течение первых трех часов, а всего зародыша — в течение 8 часов. В то же время, вступление клеток в S-фазу наблюдается через 12–22 часа. Таким образом, задержка в продвижении клеток по циклу связана не только с дегидратацией, а и с метаболическими изменениями после набухания. Предполагается, что состояние клеток меристем после гидратации может быть сходно с G<sub>0</sub>-состоянием, но для подтверждения этой гипотезы требуются дополнительные исследования.

Выполняя все эти условия можно получить определенное количество клеток с уровнем синхронности не ниже уровня живых систем клеток на протяжении пререпликативного периода и в S-фазе цикла, что позволяет смоделировать схему проверки активности действия элистима С на фазы клеточного цикла.

В эксперименте проводили обработку в течение трех часов в растворах элистима С от 10<sup>-4</sup> до 10<sup>-9</sup> ppM на тех этапах прорастания гороха, которые соответствовали определенным фазам цикла в меристеме. Для G<sub>0</sub>-фазы семена, предварительно замоченные в воде на три часа, обрабатывали три часа

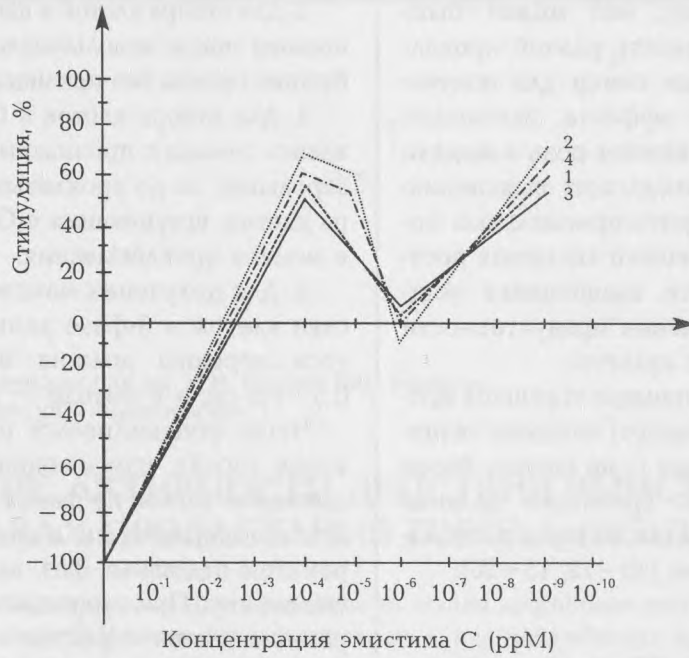


Рис. 1. Влияние эместима С на массу проростков гороха сорта Рапорт при обработке их в фазе  $G_0$  клеточного цикла (через 3–6 часов): 1 — масса корней; 2 — масса стеблей; 3 — масса одного корня; 4 — масса одного стебля

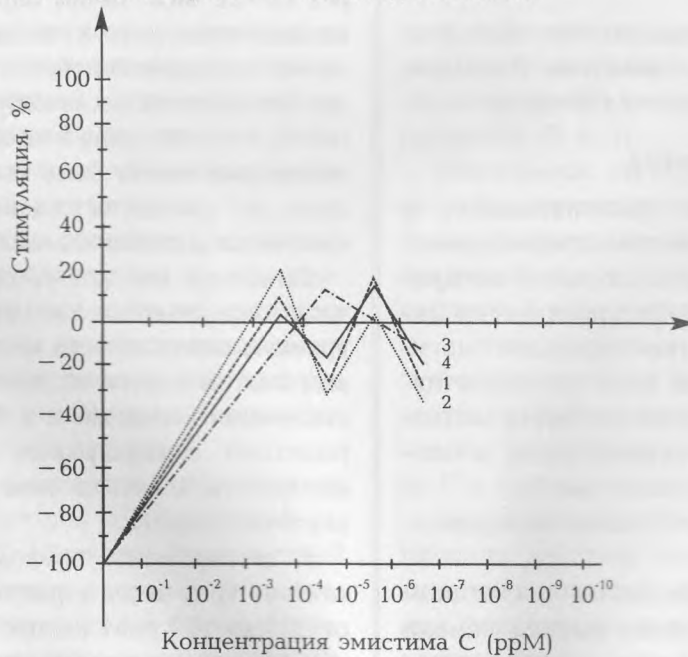


Рис. 2. Активация эместимом С проростков гороха сорта Рапорт через 16–19 часов проращивания ( $G_1$ -фаза): 1 — масса корней; 2 — масса стеблей; 3 — масса одного корня; 4 — масса одного стебля

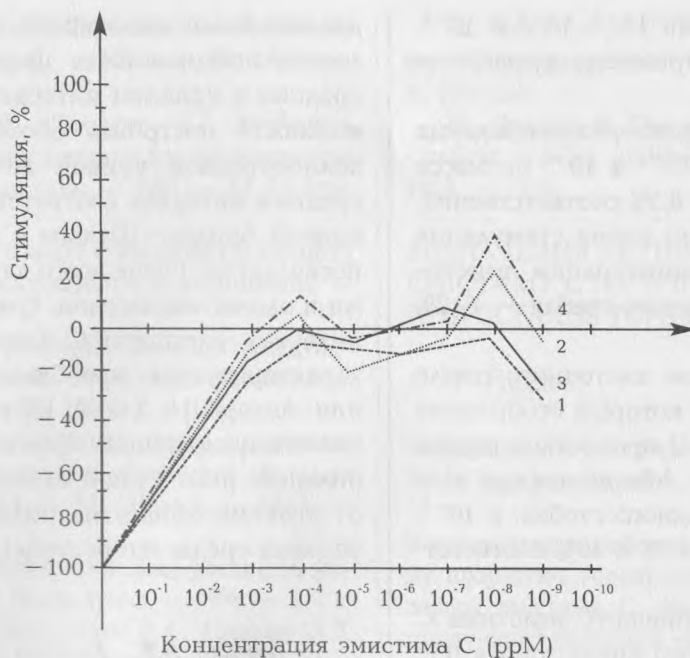


Рис. 3. Влияние элистима С на массу проростков гороха сорта Рапорт при обработке его в S-фазе клеточного деления (через 28–31 час проращивания): 1 — масса корней; 2 — масса стеблей; 3 — масса одного корня; 4 — масса одного стебля

концентрациями элистима С, затем промывали водой и инкубировали 5–6 дней при температуре 24°C.

Для G<sub>1</sub>-фазы семена гороха замачивали на 16–19 часов, затем три часа обрабатывали элистимом С, промывали водой и выращивали на влажных фильтрах в течение 5–6 дней, при температуре 24°C.

Для S-фазы — замачивали на 28 часов, выдерживали в воде, сливали воду, обрабатывали элистимом С три часа, промывали семена, оставляли в воде на фильтрах на 5–6 дней при той же температуре.

Также поступали для митозов, только замачивали семена 38–41 час.

Учет опытных образцов гороха проводили, сравнивая с контрольными по общей

массе корешков, гипокотелей и средней массе одного корешка и одного гипокотеля. Стимуляцию вычисляли в процентах.

### Результаты и обсуждение

Из полученных результатов видно, что стимулирующий эффект разведений (от 10<sup>-3</sup> до 10<sup>-9</sup> ppM) элистима С имеет волнообразную кривую, так называемую дозу-эффект, в которой начальный (стимулирующий) интервал характеризуется хорошо выраженной линейной логарифмической зависимостью стимулирующего эффекта от дозы [4, 5, 8, 13].

Поскольку состояние клеток гороха в G<sub>0</sub>-фазе — это состояние после гидратации, то здесь мы наблюдаем три волны активации

(рис. 1): в концентрации  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  и  $10^{-8}$ , причем стебли стимулировались лучше, чем корни\*.

Кривые на рис. 2 характеризуются двумя волнами активации: в  $10^{-4}$  и  $10^{-6}$  по массе стеблей — это 20,28% и 8,5% соответственно, по средней массе одного корня стимуляция составляла 17,3% в концентрации эмистима С  $10^{-6}$ , а по массе одного стебля — 19,2% при  $10^{-5}$  ppm.

Стимуляция в S-фазе клеточного цикла представлена на рис. 3, который отображает активацию эмистимом С проростков гороха в среднем через 31 час. Мы имеем три волны по средней массе одного стебля: в  $10^{-4}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-8}$ , это 14,7%, 4,5% и 40% соответственно.

Если сравнивать активность эмистима С на трех фазах клеточного цикла гороха ( $G_0$ ,  $G_1$  и S), то можно сделать вывод, что наибольшей активации можно достичь, обрабатывая семена в стадии  $G_0$ .

Из данных, полученных в результате проведенных экспериментов, следует, что клетки прорастающего семени гороха в период повышенной активности генома максимально чувствительны к действию физиологически активных веществ, например, эмистима С. На всех фазах клеточного цикла наблюдается чувствительность к действию этого вещества. Причем действие это подчиняется правилу Арндта–Шульца (Arndt–Schultz) и выражается в периодических спадах и подъемах пиков активности.

Согласно этому правилу кривая дозы-эффекта имеет один максимум, в то время, как Попов и другие установили, что она имеет

\*При вычислении стандартных отклонений по Доспехову отклонения средних величин масс корней и стеблей проростков гороха были в пределах 0,01–0,1, процентное значение этих величин в эффекте стимуляции несущественно, ими можно пренебречь. Поэтому стандартные отклонения процентов стимуляции не указаны на рисунках.

два или более максимумов, в ее ходе наблюдается повторяемость форм в начальном, среднем и крайнем интервале, что дает возможность построить обобщенный график волнообразной кривой дозы-эффекта, где средний интервал соответствует максимуму кривой Арндта–Шульца и характеризуется несколькими (чаще всего двумя) максимумами и одним минимумом. Его обозначают как интервал насыщения. Конечный интервал характеризуется преобладанием торможения. Авторы [4, 5, 8, 9, 13] указывают на то, что стимулирующий эффект не бывает стабильной, неизменной величиной, а зависит от реакции организма (главная волна) и от условий среды (второстепенные волны).

1. Борейко В.К., Калинин Ф.Л., Троян В.М. Торможение биосинтеза рибонуклеиновых кислот на протяжении пререпликативного периода клеточного цикла гидразидом малеиновой кислоты // Физиология и биохимия культурных растений. — 1979. — 11, № 2. — С. 153–157.

2. Григорюк І.П., Нижник Т.П., Курчий Б.О. Регуляція вмісту абсцизової кислоти в листках картоплі та помідорів полістимуліном К, полістимуліном А-6 та емістимом С у посушливих умовах // Там само. — 2001. — 33, № 3. — С. 241–244.

3. Гродзинский Д.М., Белецкая Е.К., Хилько Т.Д., Кравцова Л.И. О чувствительности клеточной популяции апикальной меристемы стебля озимой пшеницы к воздействию низких температур // Там само. — 1981. — 13, № 3. — С. 269–273.

4. Иванова И.А. Зависимость между реакцией и дозой у растительных организмов // Тезисы докл. на симпозиуме по стимуляции растений. — София. — 1966. — С. 11–12.

5. Кулаева О.Н. Определение кинетиновой активности веществ с помощью биотестов. Методы определения регуляторов роста и гербицидов: Сб. научных трудов. — М.: Наука, 1966. — С. 120–135.

6. Мусяка В.К. Влияние эмистима и других регуляторов на рост и морфогенез изолирован-



ных тканей кукурузы // Физиология и биохимия культурных растений. — 1998. — 30, № 4. — С. 258–263.

7. Мусіяка В.К., Григорюк Т.І. Вивчення фізіологічної активності різних партій регулятора росту емістиму // Там само. — 2001. — 33, № 1. — С. 3–9.

8. Попов М. Клеточная стимуляция и нейнотное приложение в растениеводство и медицината. — София, 1957. — 347 с.

9. Стимуляция растений. Доклады международного симпозиума по стимуляции растений // (София, 25–30 октября 1966 г.). — 127 с.

10. Терских В.В. Периоды покоя в нормальных и малигнизированных клеточных системах // Клеточный цикл. — М.: Наука. — 1973. — С. 165–185.

11. Троян В.М. Клітинний цикл рослин та його регуляція. — К.: Наук. думка. — 1998. — 171 с.

12. Троян В.М., Колесников В.А., Калинин Ф.Л. и др. Периодичность изменения структуры и функциональной активности хроматина в клетках пролиферирующих тканей прорастающих семян растений // Регуляция клеточного цикла растений. — К.: Наук. думка. — С. 37–53.

13. Шноль Э.С. Синхронные конформационные колебания молекул актолизина и актомицина в растворах // Молекулярная биофизика. — М., 1965. — С. 56–82.

14. Baserga R. Biochemistry of cell cycle. A review // Cell Tissue Kinet. — 1968. — 1, N 2. — P. 167–191.

15. Baserga R. Biochemistry of cell division. — Springfield, Illinois, USA, — 1969. — 214 p.

17. Evans M.L. Function of hormone of the cellular level of organization // Enzycl. of Plant Physiol. — Berlin: Springer Verlag. — 1984. — V. 10. — P. 23–79.

18. Howard A., Pelk S.R. Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage // Heredity (Suppl.). — 1953. — 6. — P. 261–173.

19. Laitha L.G. On the concept of the cell cycle // J. Cul. Compar. Physiol. — 1963. — 60, N 2, Suppl., 1. — P. 143–145.

18. Peand-Lenoel C. The hormonal regulation of the cell division. — Berlin: Springer Verlag. — 1977. — P. 240–248.

20. Quastler H. The analysis of cell population kinetics // Cell proliferation, Oxford, Blackwell. 1963. — 18 p.

#### ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ДІЇ ЕМІСТИМУ С НА РІЗНИХ ФАЗАХ ПРОРОСТАННЯ ГОРОХУ (PISUM SATIVUM L.)

*С.М. Рассоха*

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка  
НАН України, Україна, м. Київ

У лабораторних роботах вивчали чутливість геному проростків гороху сорту Рапорт до біостимулятора емістиму С. На всіх фазах клітинного циклу спостерігається чутливість до фізіологічно активних речовин, які входять до складу емістиму С. Дія цієї активності виявляється в дозоефекті і підпорядкована правилу Арндта–Шульца, що виражається у періодичних спадах і підйомах піків активності.

#### DETERMINATION OF ACTIVITY EFFECT OF EMISTIM C ON THE DIFFERENT PHASES OF GERMINATION OF SEAD OF PISUM SATIVUM L.

*S.N. Rassokha*

M.M. Grishko National Botanical Gardens, National  
Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kyiv

It was carried out investigations genome sensitivity of peas seedlings sort Raport to biostimulin Emistim C. All phases of cell cycles were sensitive to physiological-activ substances which composed Emistim C. The action of this influence to confirm the law of Arndt-Schultz and revealed the periodical fallings and upwards of activity peaks.