

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ МОБИЛИЗАЦИИ ЗАПАСНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН ТОМАТА В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ СРЕДЫ

Е.Н. БАРАНОВА, А.А. ГУЛЕВИЧ*, Н.В. ЛАВРОВА

(Кафедра хранения и переработки плодов и овощей)

Получены данные о цитологических маркерах-мишенях, по которым можно провести оценку повреждений растений томата при засолении. На проростках томата подтверждена специфичность нарушений процессов утилизации запасных веществ: крахмала, запасных белков и липидов. Установлено, что кроме специфичной для осмотического и солевого воздействий картины замедленной утилизации, четко идентифицируется также повреждение ядерного компартмента клеток растений томата.

Ключевые слова: запасные вещества, ультраструктура, прорастание, засоление, осмотик, Na_2SO_4 , томат, пластиды, олеосомы, вакуоли.

Прорастание семени и формирование проростка является критическим периодом в жизненном цикле растений, особенно при неблагоприятных условиях окружающей среды. Засоление почв представляет собой сильный повреждающий фактор для развития проростков, значительно снижающий продуктивность с.-х. культур [3, 4].

В мировой литературе имеется очень мало сведений о сущности процессов, из-за которых происходит замедление (ингибирование) прорастания семян и формирования проростков в условиях солевого воздействия. В основном приводятся сведения по оценке динамики морфометрических показателей различных частей семени [5] и учет изменений тотальных запасных резервов эндосперма семян растений [6]. Единичны также случаи исследования биохимической активности ферментов, участвующих в мобилизации запасных резервов семян, произрастающих в условиях засоленности внешней среды [1, 7, 8]. Информативность подобных исследований можно значительно увеличить, применив для изучения

процессов распада и утилизации запасных веществ в прорастающих семенах цитологические методы.

Ранее, на модели развивающихся проростков одного из представителей двудольных растений — люцерны посевной, методами электронной микроскопии нами было детально изучено влияние солей и осмотика маннитола на процесс мобилизации запасных веществ, депонированных в пластидах, липидных каплях (олеосомах) и в белковых телах клеток семядолей [2]. Было показано, что у растений, развивавшихся в условиях засоления среды, наблюдаются четко тестируемые изменения в мобилизации запасных веществ. Обнаружена специфичность действия осмотика и солей, которая проявилась в общем стимулирующем влиянии низких концентраций солей на рост и развитие растений, а также в ингибирующем эффекте их высоких концентраций. В настоящей работе нами были поставлены задачи: 1 — на примере проростков томата, выращиваемого на почвах с вторичным засолением, подтвердить полу-

* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН.

ченные ранее данные о влиянии солей на утилизацию запасных веществ в клетках семян, на структурную организацию ядер, характеризующую функциональное состояние генетического аппарата клетки; 2 — детально изучить процесс преобразования внутриклеточных компартментов, в которых депонированы запасные вещества (крахмал, липиды и белки), как в нормальных условиях, так и в условиях адаптации к солевому стрессу.

Методика

В качестве объекта использовали развивающиеся проростки томата (*Lycopersicon esculentum* L.) сорта Белый налив. Осмотический стресс искусственно индуцировали Na_2SO_4 и маннитолом. Для унификации условий воздействия концентрации реагенты выравнивали по осмотическому давлению до 600 кПа.

Семена (по 100 шт.) проращивали в чашках Петри на дистиллированной воде без доступа света при 22-25°C в течение суток, а затем в условиях 12-часового фотопериода при 18-20°C в темноте и 22-25°C на свету в водных растворах солей. Для электронно-микроскопического анализа отбирали листья семядолей 20-дневных проростков томата. В качестве контроля использовали те же части проростков, взятые на 2, 4 и 8-е сутки после прорастания.

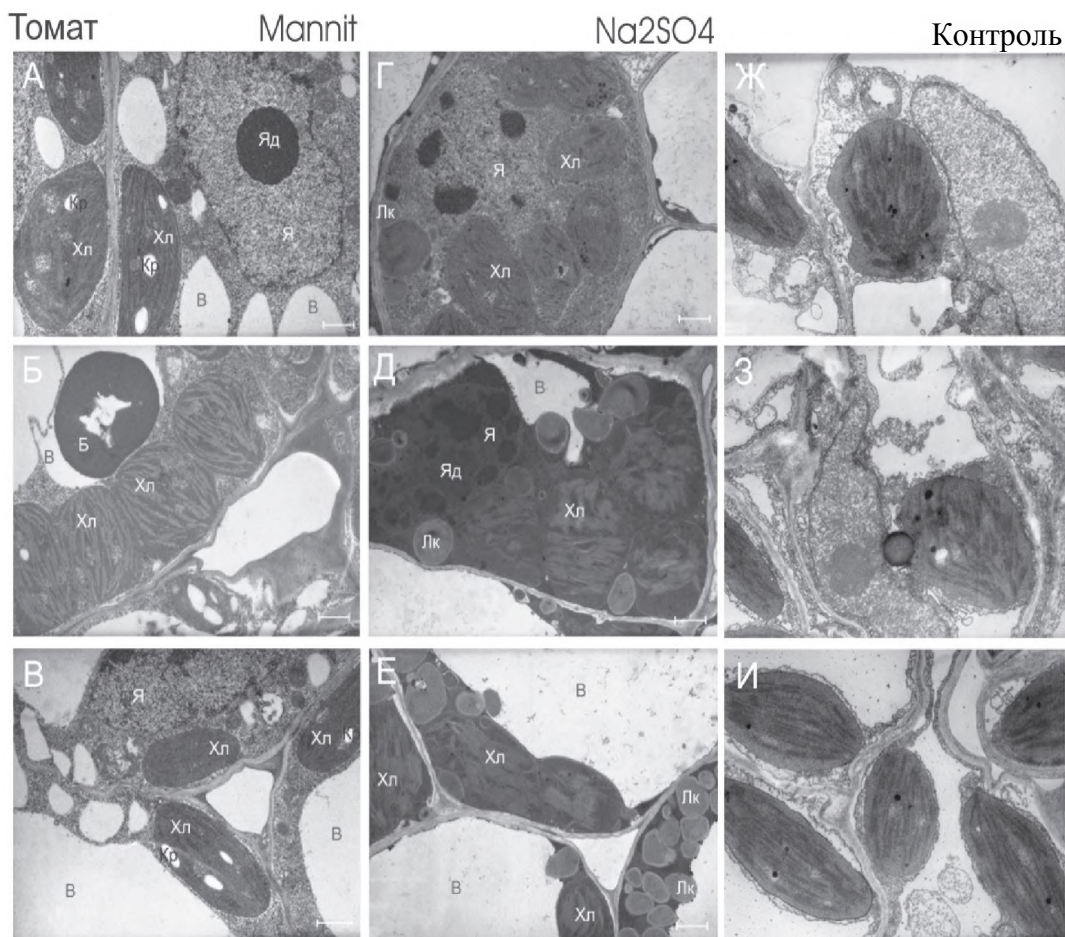
Для электронной микроскопии фрагменты семядольных листьев шириной 0,5-1 мм и длиной 1-2 мм фиксировали в 2%-м растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере с добавлением сахарозы (15 мг/мл, pH 7,2) в течение 4 ч при комнатной температуре. Постфиксацию материала проводили в 1%-й четырехокиси осмия на том же буфере в течение 2 ч. Дегидратацию и заключение материала в эпоксидную смолу проводили по стандартной методике. Ультратонкие срезы готовили на микротоме LKB — V (LKB, Швеция). Срезы окрашивали цитратом свинца и просматривали на трансмиссионном

электронном микроскопе Н-300 (Хита-чи, Япония) при ускоряющем напряжении 100 кВ и рабочем увеличении $\times 10000$.

Результаты и их обсуждение

Для изучения нарушения процессов, связанных с утилизацией запасных веществ, являющихся первичным материалом нарастания растительных тканей в проростках, мы исследовали утилизацию запасных веществ семядолей томата (крахмальных зерен и пластоглобул в пластидах, запасного белка в вакуолях, олеосом в цитоплазме) в контроле (рисунок Ж-И) при предобработке солями и осмотиком. Кроме подсчета количества неутрилизированных в связи с засолением запасных веществ, мы обращали внимание также на процессы преобразования компартментов. В данном случае можно утверждать, что имитирующее осмотическое воздействие маннитол вызывал замедление утилизации белка и препятствовал слиянию вакуолей; количество крахмала в пластидах также значительно превышало контроль (рисунок А-В). Раствор Na_2SO_4 способствовал изменениям в ядерном компартменте клеток (рисунок Г, Д), вызывая появление конденсированных участков хроматина, препятствовал утилизации липидов (рисунок Г, Д, Е), однако оказывал менее заметное влияние на утилизацию белка и крахмала. Подобные наблюдения позволяют подтвердить полученные нами ранее данные о специфическом действии солей и осмотика на утилизацию запасных веществ растений люцерны и преобразование содержащих запасных веществ компартментов в структуры, характерные для вегетирующих тканей.

Нами доказано, что в клетках томата под действием неблагоприятных условий, имитирующих засоление (осмотический фактор — маннитол, токсический и осмотический факторы — Na_2SO_4), происходит замедление утилизации запасных веществ и преобразование содержащих их компарт-



Ультраструктура клеток мезофилла семядольных листьев томата при взаимодействии с маннитолом (А-В), Na₂SO₄ (Г—Е) и в контрольных условиях (Ж-И)

ментов, изменение роста и размера клеток при растяжении, изменение их пролиферативной активности. Таким образом, на растениях томата подтверждено, что внутриклеточные цитологические мишени (маркеры) чувствительны к воздействиям, имитирующим засоление, как это было ранее установлено для растений люцерны (*Medicago sativa* L.) [2]. Установлено также, что солевые факторы специфически влияют на ядра клеток семядолей томата, что позволяет визуально идентифицировать структурные изменения, связанные, возмож-

но, с эпигенетическими ответами на действие абиотических факторов, в данном случае — засоления.

Полученные данные в дальнейшем планируется использовать для оценки солетолерантности растений, модифицированных методами генетической инженерии или клеточной селекции. Результаты данной работы позволят проводить комплексную физиологическую оценку эффективности интродуцированных генов, связанных с усилением адаптивных возможностей растений. Важно, что метод цитологических маркеров можно использовать

на ранних этапах отбора модифицированных растений, что позволяет выделять линии, действительно обладающие устойчивостью к засолению, от линий, просто прошедших успешную генетическую трансформацию, но не проявивших толерантность к различным абиотическим стрессовым воздействиям, в т.ч. к засолению.

Заключение

Изученные цитологические маркеры - мишени (утилизация крахмала в пластидах, липидов в олеосомах и запасного бел-

ка в вакуолях) являются высокочувствительными и специфически реагирующими на различные типы засоления и осмотические воздействия.

Для детальной характеристики повреждения метаболических процессов можно эффективно использовать ультраструктурное обследование процессов утилизации запасных веществ с фиксацией преобразований запасяющих компартментов клетки растений.

Работа частично профинансирована грантом РФФИ 07-08-00610-а и программой РАСХН 04.03.03.01.

Библиографический список

1. Баранова Е.Н., Лаврова Н.В., Гулевич А.А. Динамика утилизации запасных веществ в семядолях люцерны под влиянием солей и осмотика // Известия ТСХА, 2005. Вып. 4. С. 169-173.
2. Домаш В.И., Сосновская Т.Ф., Шарню Т.П., Забрейко С.А. Активность системы протеолиза люпина желтого (*Lupinus luteus* L.) и ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в условиях солевого стресса // Известия НАН Беларуси. Сер. Биол. Наук, 2006. № 3. С. 22-26.
3. Hosseini M.K., Powell A.A., Bingham I.J. Comparison of the Seed Germination and Early Seedling Growth of Soybean in Saline Conditions // Seed Sci. Res., 2002. Vol. 12. P. 165-172.
4. Joshi A.J., Mali B.S., Hinglajia H. Salt tolerance at germination and early growth of two forage grasses growing in marshy habitats // Environ. Exp. Bot., 2005. Vol. 54. P. 267-274.
5. Rogers M.E., Noble C.L., Halloran G.M., Nicholas M.E. The Effect of NaCl on the Germination and Early Seedling Growth of White Clover (*Trifolium repens* L.) Populations Selected for High and Low Salinity Tolerance // Seed Sci. Technol., 1995. Vol. 23. P. 277-287.
6. Soltani A., Gholipoor M., Zeinali E. . Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity // Environ. Exp. Bot., 2006. Vol. 55. P. 195-200.
7. Ben Miled D.D., Zarrouk M., Cherif A. Sodium Chloride Effects on Lipase Activity in Germinating Rape Seeds, 2000. Vol. 28. Part 6. P. 899-902.
8. Lin C.C., Kao C.H. NaCl stress in rice seedlings: starch // Bot. Bull. Acad. Sin., 1995. Vol. 36. P. 169-173.
9. Voigt E.L., Almeida T.D., Chagas R.M., Ponte L.F.A., Viçegas R.A., Silveira J.A.G. Source-sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity // J. Plant Physiol, 2008. Vol. 166. P. 80-89.

Рецензент — д. с.-х. н. И.В. Кобозев

SUMMARY

Data on cytological markers-targets by which one can make an evaluation of injuries (defects) in tomato plants on saline soils are gathered. Specificity of reserve substances utilization process abnormalities has been proved in tomato seedlings: starch, reserve proteins and lipids. It has been discovered that apart from specific for osmotic and saline effect overmoderated utilization, nuclear cells compartment injury is clearly identified in tomato plants.

Key words: reserve substances (matter), ultrastructure, germination, salinization of soil, osmotic, Na₂S₀4, tomato, plastids, oleosomes, vacuoles.