

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПОСЕВНОГО ЭЛЕКТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ И ФИТОГОРМОНОВ

Н.Н. Лой, кандидат биологических наук, Н.И. Санжарова, член-корреспондент РАН,
Е.А. Казакова, кандидат биологических наук, С.В. Битаршвили, кандидат биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии,
249032, Калужская обл., Обнинск, Киевское шоссе, 109 км
E-mail: loy.nad@yandex.ru

Исследования проводили с целью определения возможности предпосевной обработки семян ячменя низкоэнергетическим электронным излучением для улучшения ростовых процессов и снижения поражения фитопатогенами. В лабораторном эксперименте изучали воздействие низкоэнергетического (160 кэВ) электронного излучения в дозах 1, 3 и 5 кГр при мощности дозы 500 Гр/имп. на посевные качества, морфометрические показатели проростков, пораженность грибными болезнями на естественном инфекционном фоне, а также на активность ферментов и концентрацию фитогормонов в 7-и суточных проростках. В контроле семена не облучали. Обработка дозой 3 кГр вызвала статистически значимое увеличение, по сравнению с контролем, лабораторной всхожести на 6 % и силы роста семян – на 10 %. Облучение в дозах 1 и 5 кГр не оказало влияния на величины этих показателей. В вариантах с дозой 1 и 5 кГр происходило увеличение длины ростка, по сравнению с контролем, на 6,8...8,2 %, корешка – на 5,9...24,6 %. Доза 3 кГр не влияла на величины этих показателей. Облучение не оказало значительного воздействия на сырую и сухую массу проростков и содержание в них воды. Обработка семян электронным излучением полностью подавляла развитие *Penicillium* spp. при дозах 1, 3 и 5 кГр, *Fusarium* spp. – при дозах 3 и 5 кГр, но значительно увеличивало пораженность проростков *Bipolaris sorokiniana* в 2,1 раза и ее распространенность в 1,8 раза при дозе 5 кГр. Облучение не оказало влияния на активность большинства ферментов и фитогормонов в проростках, кроме повышения содержания ИУК в 1,5 раза при дозе 5 кГр и ИМК в 2,7 раза при дозе 1 кГр, по сравнению с контролем.

THE EFFECT OF PRE-SOWING ELECTRON RADIATION ON THE DEVELOPMENT OF BARLEY SEEDLINGS AND THE ACTIVITY OF ENZYMES AND PHYTOHORMONES

N.N. Loy, N.I. Sanzharova, E.A. Kazakova, S.V. Bitarishvili

Russian Institute of Radiology and Agroecology,
249032, Kaluzhskaya obl., Obninsk, Kievskoe shosse, 109 km

In a laboratory experiment, the effect of pre-sowing low-energy (160 keV) electron radiation at doses of 1, 3, and 5 kGy at a dose rate of 500 Gy/pulse was studied. On sowing qualities, morphometric parameters of barley seedlings of the Vladimir spring variety, their susceptibility to fungal diseases against a natural infectious background, as well as on the activity of enzymes and the concentration of phytohormones in 7-day-old seedlings. The repetition in the experiment was 3-fold, non-irradiated seeds served as control. Irradiation of seeds at a dose of 3 kGy caused a statistically significant increase in comparison with the control of laboratory germination (LV) by 6 % and seed growth force (SPC) by 10 %, and at a dose of 1 kGy, an increase in root length by 24.6 % and had no significant effect on morphometric parameters at a dose of 5 kGy. Seed treatment did not affect the green and dry weight of the seedlings and the percentage of water content in them. Irradiation completely suppressed the development of *Penicillium* spp. at doses of 1, 3 and 5 kGy, *Fusarium* spp. – at doses of 3 and 5 kGy and significantly increased the prevalence of *Bipolaris sorokiniana* seedlings by 2.1 times and its prevalence by 1.8 times at a dose of 5 kGy. Electron irradiation of barley seeds had no effect on the activity of enzymes and phytohormones, except for a significant increase in 7-day-old seedlings of the content of IAA at a dose of 5 kGy by 1.5 times and IBA at a dose of 1 kGy by 2.7 times compared with the control.

Ключевые слова: ячмень яровой (*Hordeum vulgare* L.), электронное излучение, морфометрические показатели, пораженность болезнями, активность ферментов, концентрация фитогормонов

Key words: electronic radiation, spring barley *Hordeum vulgare* L., morphometric indicators, disease incidence, enzyme activity, phytohormone concentration

Усилия многих ученых и специалистов направлены на изыскание новых методов обеззараживания семян без применения ядохимикатов. К их числу можно отнести развитие принципиально нового метода предпосевной подготовки семян, основанного на использовании энергии электромагнитных излучений [1, 2, 3]. Его использование открывает возможности для решения важных агроэкологических и социально-экономических проблем, направленных на дальнейшее увеличение производства продукции растениеводства [4, 5, 6].

В экстремальных условиях важнейший механизм устойчивости – активизация многоуровневой биохимической системы антиоксидантной защиты, в которую входит большое число компонентов. Среди них особое место занимают низкомолекулярные метаболиты, проявляющие антиоксидантные свойства (аскорбиновая кислота, глутатион, пролин, каротиноиды, флавоноиды

и др.), и антиоксидантные ферменты (СОД, каталаза, пероксидаза) [7, 8].

Цель исследований – изучение возможности предпосевной обработки семян ячменя низкоэнергетическим электронным излучением для улучшения ростовых процессов и снижения поражения фитопатогенами.

Методика. Эксперименты проводили на яровом ячмене (*Hordeum vulgare* L.) сорта Владимир урожая 2018 г. (репродукция элита). В процессе хранения всхожесть семян снизилась, что позволило полнее оценить влияние предпосевного облучения на их посевные качества. Схема опыта предусматривала облучение семян перед посевом на электронном ускорителе «Дуэт» [9] в дозах 1, 3 и 5 кГр. Мощность дозы излучения составляла 500 Гр/имп., энергия электронов – 160 кэВ. Контролем служили необработанные семена. Время экспозиции зависело от заданной дозы и энергии импульса, то есть

она набиралась количеством импульсов.

Через 5 дней после облучения семена проращивали в рулонах фильтровальной бумаги в течение 7 суток в термостате при температуре +20 °С согласно ГОСТ 12038-84. При проведении лабораторных опытов учитывали лабораторную всхожесть (ЛВ), длину ростка и корешка, сырую и сухую массу проростков, содержание воды в проростках. Учет пораженности (степень поражения и распространенность) проростков болезнями проводили по ГОСТ 12044-93.

Для анализа активности ферментов с рулонов фильтровальной бумаги отбирали семидневные проростки ячменя в трех биологических повторностях на каждую исследуемую дозу (одна повторность – 4...5 растений с одного рулона). Образцы сразу же замораживали в жидком азоте и хранили в сосуде Дьюара до начала анализа. Для исследования из каждой криопробирки отбирали навеску ткани (~ 0,26 г) и гомогенизировали в фарфоровой ступке в жидком азоте. Гомогенат быстро (избегая размораживания) переносили в чистые пробирки и растворяли в 1 мл 0,05 М холодного калий-фосфатного буфера (рН 7,0). Затем содержимое пробирок перемешивали на вортексе, после чего гомогенат центрифугировали в течение 20 мин. при скорости 14500 об./мин. на мини-центрифуге «Eppendorf» с охлаждением. Полученный супернатант использовали для анализа. Пробоподготовку проводили с использованием штатива-охладителя «CoolBox». Активность ферментов каталазы и гваяколовой пероксидазы определяли по методике [10], аскорбатпероксидазы – по методике [11] с незначительными модификациями, связанными с подготовкой реакционных смесей для анализа на бескуветном спектрофотометре. Экстракты анализировали на бескуветном спектрофотометре «NanoDrop-2000» (Thermo, США).

Концентрацию фитогормонов – индолилуксусной кислоты (ИУК), индолилмасляной кислоты (ИМК) и абсцизовой кислоты (АБК) – оценивали в образцах листьев методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Навеску растительного материала массой 300 мг гомогенизировали в жидком азоте, пробоподготовку образцов проводили согласно методике, ранее апробированной на проростках ячменя [12]. Качественный и количественный анализ целевых компонентов осуществляли на высокоэффективном жидкостном хроматографе Shimadzu LC-30 Nexera (Япония) с диодно-матричным детектором SPD-M20A (Shimadzu). Разделение фитогормонов проводили на аналитической колонке с обращенной фазой C18 (Shim-pack XRODSII, 2 мкм, диаметр 3,0 мм, длина 100 мм, Shimadzu). Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Lab Solutions (Shimadzu). Анализ проводили в 3 биологических повторностях с двумя техническими репликациями.

Экспериментальные данные анализировали методами непараметрической статистики с использованием программ MS Excel и STATISTICA. Статистическую значимость различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Оценка механизма влияния ионизирующего излучения на растения возможна путем определения изменения многих факторов, в том числе морфометрических показателей развития растений [13]. Результаты анализа 7-и суточных проростков ячменя свидетельствуют о том, что облучение семян в дозе 1 и 5 кГр способствует увеличению длины ростка, по сравнению с контролем, на 6,8...8,2 %, корешка – на 5,9...24,6 %. Обработка дозой 3 кГр не оказывала влия-

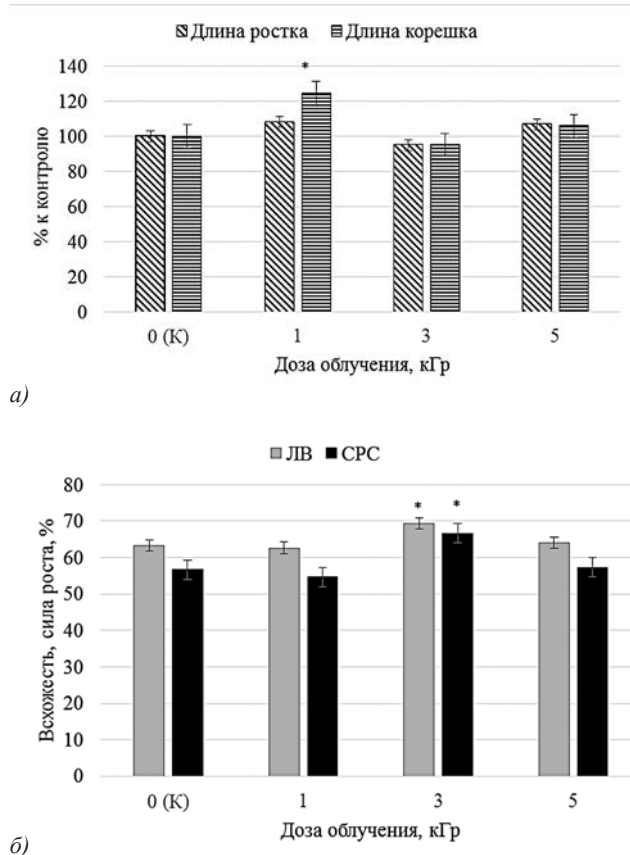


Рис. 1. Влияние облучения на морфометрические показатели проростков (а) и лабораторную всхожесть и силу роста семян (б),

*** различия статистически значимы, по сравнению с контролем, при $p \leq 0,05$.**

ния на величины этих показателей (рис. 1а). Нелинейный характер зависимости между интенсивностью облучения семян и откликом растений и патогенов отмечали и ранее на семенах огурца [14] и яровой пшеницы [15].

Предпосевное электронное облучение семян в дозе 3 кГр вызвало увеличение лабораторной всхожести (ЛВ), по сравнению с контролем, на 6 %, силы роста семян (СРС) – на 10 %, но не оказало достоверного влияния на величины этих показателей в вариантах с дозами 1 и 5 кГр (рис. 1б). Стимулирующее действие облучения в дозе 3 кГр на посевные качества семян ячменя при отсутствии значимого эффекта на морфометрические параметры позволяют предположить различные механизмы воздействия облучения на разные показатели развития семян ячменя. Подобные результаты были получены исследователями в других работах [14, 15].

Облучение не оказало статистически значимого влияния на сырую и сухую массу проростков, а также содержание воды в проростках. Сырая масса в расчете на 1 растение варьировала в пределах 0,30... 0,34 г, сухая – в пределах 0,030... 0,035 г.

Результаты фитоэкспертизы 7-и суточных проростков свидетельствуют о их пораженности возбудителями грибных болезней *Bipolaris sorokiniana* Sh., *Fusarium* spp. и *Penicillium* spp. (рис. 2). В наибольшей степени они были поражены *Bipolaris sorokiniana*. Предпосевное облучение в дозе 5 кГр статистически значимо увеличивало пораженность проростков этим возбудителем – в 2,1 раза, распространенность болезни – 1,8 раза, а в дозах 1 и 3 кГр не оказывало значительного влияния на

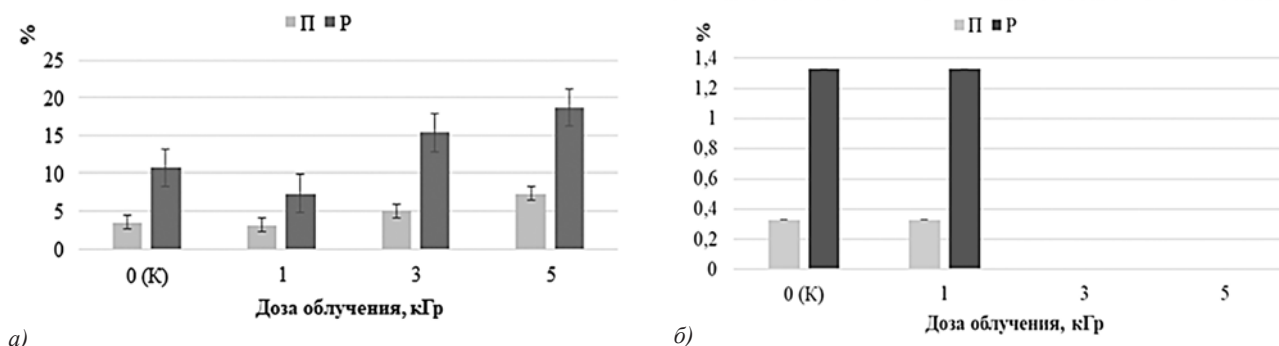


Рис. 2. Влияние облучения на пораженность проростков ячменя *Bipolaris sorokiniana* (а) и *Fusarium spp.* (б): П – пораженность, Р – распространность.

величины этих показателей. Развитие *Fusarium spp.* и *Penicillium spp.* в контроле отмечали на достаточно низком уровне – 0,33 %. Облучение в дозах 1...5 кГр полностью подавило развитие *Penicillium spp.*, в дозах 3 и 5 кГр – *Fusarium spp.* (рис. 2б). В наших исследованиях на огурце [14] было установлено, что эффективность предпосевного облучения семян по степени снижения пораженности проростков грибными болезнями была разнонаправленной и зависела от таких факторов, как сортовые особенности культуры, режим облучения, доза и продолжительность пострadiaционного периода.

Естественный инфекционный фон в эксперименте в контроле был недостаточно высоким, однако позволил выявить эффективность применения предпосевного электронного облучения семян на радиочувствительность различных патогенов.

Контроль уровня активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов, которые могут возникать в результате воздействия на растения различных стрессоров, в том числе облучения проростков, осуществляется антиоксидантной системой растений. К числу основных ферментативных антиоксидантов относятся каталаза, гваяколовая пероксидаза и аскорбатпероксидаза [16]. Изучение их работы поможет выяснить, как отвечает антиоксидантная система растений на электронное излучение в исследуемых дозах. В нашем исследовании предпосевное облучение семян ячменя сорта Владимир не оказывало статистически значимого влияния на активность каталазы, аскорбатпероксидазы и содержание гваяколовой пероксидазы, по сравнению с контролем (см. табл.).

В других исследованиях [17] было установлено, что облучение электронным пучком 0,5 кГр в целом может увеличивать активность пероксидазы, каталазы и аскорбатпероксидазы в плодах киви в течение периода

хранения плодов. Облучение зрелых плодов перца ускоренными электронами в диапазоне доз 1...7 кГр [18] не изменяло или снижало активность ферментов каталазы, аскорбатпероксидазы и супероксиддисмутазы, по сравнению с необлученными плодами, а активность пероксидазы увеличивалась по мере роста дозы. Возможно, дозы низкоэнергетичного электронного излучения, используемые в нашей работе недостаточны, для того чтобы вызвать активацию или угнетение изучаемых ферментов.

Активность каталазы, гваяколовой пероксидазы и аскорбатпероксидазы в контрольных и облученных проростках ячменя, МЕ* в мл реакционной смеси

Доза	Каталаза САТ	Гваяколовая пероксидаза РОХ	Аскорбатпероксидаза АРХ
0 (контроль)	230,849	0,150	2,943
1 кГр	201,835	0,060	3,127
3 кГр	208,142	0,128	2,943
5 кГр	208,142	0,372	3,127

*МЕ – международные единицы ферментативной активности.

Регуляция роста растений в условиях действия факторов различной природы, в том числе физических, опосредована работой гормональной системы [19]. Фитогормоны, вырабатываясь в очень низких концентрациях и транспортируясь по всему растению, координируют различные пути передачи сигналов и реализацию физиологических программ развития [20]. Изменение фитогормонального статуса – своего рода индикатор

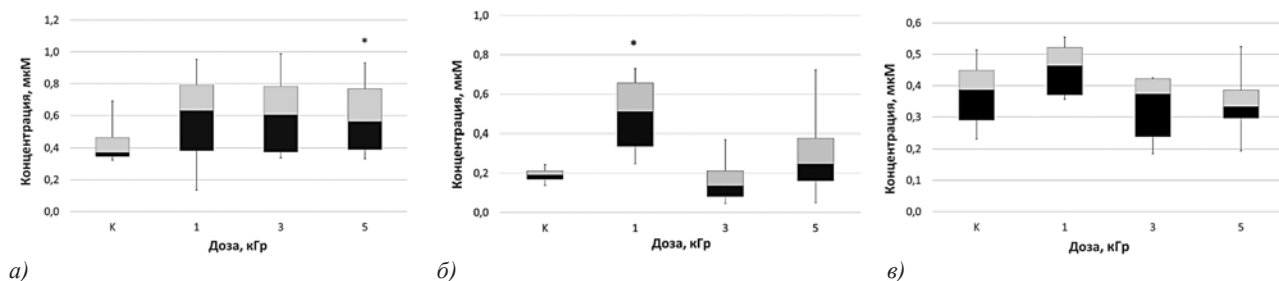


Рис. 3. Содержание ИУК (а), ИМК (б) и АБК (в) в 7-и дневных побегах ячменя (данные представлены в формате первый квартиль – Q1, медиана – Q2, третий квартиль – Q3; серым цветом обозначен блок, высота которого равна разности между Q3 и Q2, черным – между Q2 и Q1; высота серо-черного блока равна интерквартильному размаху – разности между Q3 и Q1),

*различия статистически значимы, по сравнению с контролем, по результатам U-теста.

функционального состояния растений, определяющего его ростовые стратегии. Облучение семян в дозе 5 кГр привело к статистически значимому ($p=0,05$) повышению ИУК в 7-и суточных проростках в 1,5 раза (рис. 3а), при дозах 1 и 3 кГр отмечали рост величины этого показателя на уровне тенденции ($p=0,10$). Предпосевное электронное облучение семян ячменя дозой 1 кГр вызвало статистически значимое ($p=0,01$) увеличение содержания ИМК, по сравнению с необработанными растениями, в 2,7 раза и не оказало влияния при более высоких дозах 3 и 5 кГр (рис. 3б). Определение концентрации АБК, природного гормонального ингибитора роста терпеноидной природы, показало, что электронное облучение семян не влияло на величину этого показателя (рис. 3в).

Выводы. Низкоэнергетическое электронное облучение семян ячменя перед посевом – эффективный прием, использование которого в дозе 3 кГр повышает посевные качества семян (всхожесть на 6 % и силу роста на 10 %), в дозе 1 кГр вызывает увеличение длины корешка на 24,6 %, в дозах 3 и 5 кГр способствует снижению пораженности проростков фитопатогенами *Penicillium* spp. и *Fusarium* spp. Необходимо провести дальнейшие исследования в более широком диапазоне доз с целью выявления наиболее эффективного варианта.

Литература.

1. Влияние электромагнитного поля низкой частоты на активность роста поверхностной микрофлоры яблок / М. Г. Барышев, Н. Н. Волченко, Е. Е. Текущая и др. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2022. № 1. С. 77–82.
2. Винецкий Е. И., Чернов А. В. Влияние различных режимов обработки листьев табака с градиентным воздействием постоянного магнитного поля на их химический состав // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2022. № 2-3. С. 58–62.
3. Санжарова Н. И., Лой Н. Н. Эффективность и перспективы применения ионизирующего излучения для фитосанитарной обработки зерна и зернопродуктов // Пищевая промышленность. 2022. № 5. С. 10–13. doi : 10.52653/PPI.2022.5.5.002.
4. Шорсткий И. А., Худяков Д. А. Влияние электрофизической обработки на структуру масличных материалов с применением X-ray микротомографии // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 8. №3. С. 116–123. doi : 10.20914/2310-1202-2018-3-116-123.
5. Resistance of different species of insect pests of grain to the influence of gamma radiation / N. N. Loi, N. I. Sanzharova, T. V. Chizh, et al. // AIP Conference Proceedings. 2022. Vol. 2478. Article. 050018. URL : <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/5.0099264> (дата обращения : 09.03.2023) doi : 10.1063/5.0099264.
6. Облучение биологических объектов с применением ионизационного пучка с целью ингибирования условно-патогенной и патогенной микрофлоры сельскохозяйственного сырья / М. А. Завьялов, В. А. Кухто, Н. В. Илюхина и др. // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 8. №3. С. 278–283. doi : 10.20914/2310-1202-2018-3-278-282.
7. Системная защита риса от пирикулярйоза ингибиторами антиокислительных ферментов / А. А. Аверьянов, Т. Д. Пасечник, В. П. Лапикова и др. // Физиология растений. 2015. Т. 62. № 5. С. 628–637.
8. Влияние дефицита криптохромов 1 и 2 на фотосинтетическую активность и про-антиоксидантный баланс в листьях растений *Arabidopsis thaliana* при действии УФ-В / А. Ю. Худякова, В. Д. Креславский, А. Н. Шмарев и др. // Физиология растений. 2022. Т. 69. № 2. С. 207–215.
9. Vorobyov M. S., Koval N. N., Sulakshin S. A. An electron source with a multiaperture plasma emitter and beam extraction into the atmosphere // Instrum. Exp. Tech. 2015. 58. No. 5. P. 687–695.
10. Chance B., Maehly A. C. Assay of catalases and peroxidases // Methods Enzymol. 1955. Vol. 2. P. 764–775.
11. Verma S., Dubey R. S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants // Plant Science. 2003. Vol. 164. P. 645–655.
12. Битаршвили С. В., Волкова П. Ю., Гераськин С. А. Влияние γ -облучения семян на фитогормональный статус проростков ячменя // Физиология растений. 2018. Т. 65. № 2. С. 223–231.
13. Ульяненко Л. Н., Удалова Л. Н. Оценка состояния окружающей среды по реакции сельскохозяйственных растений на действие ионизирующих излучений // Радиация и риск. 2015. Т. 24. № 1. С. 118–131.
14. Влияние электронного излучения на радиорезистентность фитопатогенной микрофлоры огурца / Н. Н. Лой, Н. И. Санжарова, С. Н. Гулина и др. // Российская сельскохозяйственная наука. 2021. № 4. С. 47–50. doi : 10.31857/S2500262721040104.
15. Предпосевная обработка семян яровой пшеницы импульсным электронным пучком в атмосфере / С. Ю. Дорошкевич, К. П. Артёмов, Н. Н. Терещенко и др. // Химия высоких энергий. 2021. Т. 55. № 4. С. 326–332.
16. Прадедова Е. В., Ишеева О. Д., Салаяев Р. К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 2. С. 177–185.
17. Electron-beam irradiation delayed the postharvest senescence of kiwifruit during cold storage through regulating the reactive oxygen species metabolism / R. Li, S. Yang, D. Wang, et al. // Radiation Physics and Chemistry. 2021. Vol. 189. Article. 109717. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X21003674?via%3Dihub> (дата обращения : 09.03.2023). doi : 10.1016/j.radphyschem.2021.109717.
18. Electron Beam Ionization Induced Oxidative Enzymatic Activities in Pepper (*Capsicum annuum* L.), Associated with Ultrastructure Cellular Damages / Martiane-solano J. R., Nchez-bel Saa P., Egea I., et al. // J. Agric. Food Chem. 2005. Vol. 53. P. 8593–8599.
19. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants / S.H. Wani, V. Kumar, V. Shriram, et al. // Crop J. 2016. – Vol. 4. P. 162–176. doi : 10.1016/j.cj.2016.01.010.
20. Генетика развития растений / Л. А. Лутова, Т. А. Ежова, И. Е. Додуева и др. Спб. : Наука, 2010. 539 с.

Поступила в редакцию 06.02.2023

После доработки 05.03.2023

Принята к публикации 19.03.2023