

На правах рукописи

КОШИШОВА Юлия Николаевна

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ СЕМЯН КУКУРУЗЫ В СВЯЗИ С
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ ПРИ НАБУХАНИИ И ХРАНЕНИИ

03.00.12. – физиология и биохимия растений

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород

2006

Работа выполнена на кафедре ботаники и физиологии растений
Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии.

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Рубцова М.С.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор

Лобов В.П.

кандидат биологических наук, доцент

Федулина С.Б.

Ведущая организация:

Московская государственная сельскохозяйственная академия
им.К.А.Тимирязева

Защита состоится «21» ноября 2006 года в 15 часов на заседании
диссертационного совета К212.166.06 Нижегородского государственного
университета им.Н.И.Лобачевского (603950, Нижний Новгород, пр.Гагарина,
д.23).

[e-mail:dec.@bio.unn.ru](mailto:dec.@bio.unn.ru)

fax (8312) 34-50-56

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ
им.Н.И.Лобачевского

Автореферат разослан «20» октября 2006 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

кандидат биологических наук

Александрова И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одной из наиболее актуальных задач современной физиологии растений является изучение процессов, протекающих в семенах сельскохозяйственных растений, связанных с всхожестью и продуктивностью. Для этой цели желательно использовать интегральные показатели, характеризующие функциональное состояние целого организма или ткани. Весьма перспективными в этом отношении являются электрофизиологические методы, в частности, регистрация биоэлектрических потенциалов растительных клеток, тканей и органов. Поверхностно регистрируемая разность потенциалов (РП) между полярными концами органов и различными участками ткани позволяет оценивать состояние целого организма или ткани по электрическому критерию через механизмы формирования физиологической полярности, отражая и даже, в известной степени, определяя уровень их обмена веществ (Медведев, 1996). Электрофизиологические методы, контролирующие состояние растения или семени, разрабатываются и используются при диагностике устойчивости растений в период действия неблагоприятных факторов среды (Гунар и др., 1971, 1974; Третьяков и др., 1996; Захарьин, 2003), оценке пола растений на ранних стадиях (Мишин и др., 1994), изучении условий влагообеспечения, минерального питания и роста (Jaffe, 1977; Третьяков и др., 1996; Паничкин, 2000, 2001; Каменская и др., 1992, 2003), при изучении транспорта веществ (Оприлов, 1976, 1977, 1978, 2001; Оприлов и др., 1973, 1984, 1991; Delmer et al, 1982; Dahse et al, 1987; Roblin et al, 1987; Конев, 1987; Bush, 1990; Крутова, 1997; Кошишова, 2002); опылении (Духовный, 1973); устойчивости (Пятыгин и др., 1989; Полевой и др., 1990; Оприлов, 1991; Оприлов и др., 1994; Черницкий и др., 1994), при исследовании жизнеспособности семени (Рубцова и др., 1990; Подлиток и др., 2003; Федулина и др., 2003), прогнозирования качественных и количественных характеристик будущего урожая (Рубцова и др., 1994, 1998; Лебедева и др., 1997;

Крутова и др., 2003). Установлена связь между РП набухающих семян кукурузы и гетерозисным эффектом, АТФ-азной активностью и активностью некоторых других ферментов (Лебедева, 1997). Накоплен большой экспериментальный материал по изучению РП между зародышем и эндоспермом набухающих семян кукурузы и пшеницы. В частности, ранее установлено: а) перед прорастанием происходит переход РП зародыша в отрицательную область по отношению к эндосперму (негативация зародыша); б) при отсутствии предварительной негативации семя не прорастает (Рубцова и др., 1998; Федулина и др., 2003); в) РП семян кукурузы в фазу молочно-восковой спелости коррелирует с содержанием общего и белкового азота в зерне (Рубцова и др., 1992; Дятлова, 1997); г) РП набухающих семян изменяется в процессе набухания не только по величине, но и по знаку (Рубцова и др., 2001). Показана также тесная связь РП семян пшеницы с активностью работы металлосодержащих ферментов дыхания и каталазы, а также с интенсивностью дыхания (Федулина, 1999, 2001). В настоящее время в литературе имеются данные свидетельствующие о связи биоэлектрических потенциалов со многими метаболическими процессами, протекающими в набухающих семенах гибридов и самоопыленных линий кукурузы, позволяющие предполагать возможность использования этого показателя в селекции для диагностики урожая и всхожести семян.

Цель и задачи исследований. Настоящая работа посвящена изучению возможной связи РП с физиологическими процессами семян, обеспечивающих продуктивность растений. При этом основное внимание уделялось выявлению согласования процессов, протекающих в зародыше прорастающего семени, и биопотенциалов.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить наиболее оптимальные временные промежутки регистрации биопотенциалов набухающих семян кукурузы.
2. Изучить динамику разности потенциалов (РП), выхода аминокислот при распаде белка из алейронового слоя в эндосперм семени, интенсивности дыхания, активности ряда ферментов (аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, пероксидазы и каталазы) набухающих семян высокогетерозисных и низкогетерозисных гибридов кукурузы, а также их исходных самоопыленных линий у всхожих семян и потере всхожести при длительном хранении.
3. Выяснить возможность контроля с помощью биопотенциалов за снижением жизнеспособности семян самоопыленных линий кукурузы.

Научная новизна работы. Впервые подробно прослежена динамика разности потенциалов набухающих семян кукурузы в связи с изменением важнейших физиологических процессов, протекающих в семени, такими как: выход аминокислот из алейронового слоя в эндосперм при распаде запасного белка, дыхание, активность ферментов аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, пероксидазы, каталазы.

Выявлены общие закономерности изменения изучаемых показателей для всхожих и невсхожих семян кукурузы. Показано наличие тесной связи между динамикой биопотенциалов и процессом дыхания у всхожих семян высокогетерозисных гибридов, некоторые нарушения данной связи у всхожих семян низкогетерозисных гибридов и ее отсутствие у невсхожих семян.

Отмечена тесная связь между динамикой биопотенциалов и активностью ферментов (аскорбатоксидаза, полифенолоксидаза, каталаза) для всхожих семян и ее полное отсутствие для невсхожих семян.

Экспериментально установлено, что у хранящихся семян самоопыленных линий кукурузы имеет место значительное снижение всхожести и смещение РП в область положительных значений, что можно зафиксировать в интервале от 4 до 12 часов набухания, т.е. на ранних

этапах набухания. Показатель РП семян можно использовать для диагностики состояния семян самоопыленных линий кукурузы без их повреждения.

Установлено, что обработка аскорбиновой кислотой набухающих семян самоопыленных линий кукурузы изменяет РП в отрицательную область, увеличивает интенсивность дыхания и повышает всхожесть.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные материалы и сделанные выводы важны для понимания механизмов, лежащих в основе процессов прорастания. Они могут быть использованы в теории гетерозиса. В физиологии и электрофизиологии семян возможно их применение в практической работе по селекции кукурузы. Результаты проведенных исследований дают возможность рассматривать РП как одно из главных звеньев, обеспечивающих согласование ряда жизненно важных процессов набухающего семени и рассматривать его как интегральный показатель физиологического состояния семян. Полученные по биопотенциалам результаты могут быть использованы для оценки физиологического состояния семян и прогнозирования хозяйственно-полезных признаков зерновых культур. В частности, нами предложен способ оценки жизнеспособности семян самоопыленных линий кукурузы, находящихся на хранении. Институтом патентной экспертизы выдан патент №2222181 (2004).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Изменения РП между зародышем и эндоспермом, областью корешка и почечки зародыша, полярными концами тыльной стороны набухающего семени кукурузы имеют тесную связь с процессами, идущими в зародыше набухающего семени.
2. Мощность ростовых процессов обеспечивается соответствием между изменением РП и важнейшими физиологическими процессами, идущими с участием ферментов.

3. У всхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы наблюдается четкое согласование динамики РП, интенсивности дыхания, активности ряда ферментов и процесса гидролиза белка в алейроновом слое эндосперма.
4. У всхожих семян низкогетерозисного гибрида кукурузы выявлено нарушение соответствия изменения данных показателей.
5. У невсхожих семян кукурузы согласование указанных показателей, кроме пероксидазы, отсутствовало.
6. При понижении жизнеспособности нарушается связь ряда процессов как между собою, так и с потенциалами. Результатом является хаотичность процессов.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: 2-ом международном симпозиуме «Физико-химические основы функционирования белков и их комплексов» (Воронеж, 1998); Научной конференции «Пути повышения урожайности сельскохозяйственных культур» (Нижний Новгород, 2001); Международном симпозиуме «Сигнальные системы в растительных клетках» (Москва, 2001); 2-ой международной конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы современной науки» (Самара, 2001); 6-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология-наука 21-го века» (Пущино, 2002); Международной научно-практической конференции «Биологические аспекты интенсификации сельскохозяйственного производства» (Пенза, 2002); Научно-практической конференции «Проблемы регионального экологического мониторинга» (Нижний Новгород, 2002); 3-ем съезде биофизиков России (Москва, 2004); на расширенном заседании кафедры ботаники и физиологии растений НГСХА (Нижний Новгород, 2006).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, литературный обзор, материалы и методы исследования, результаты исследования, заключение, выводы и списка

литературы (151 работа, в том числе 48 иностранных). Работа изложена на 98 страницах машинописного текста, содержит 23 рисунка и 1 таблицу.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Объектом исследования служили семена кукурузы (*Zea mays*), полученные с Кубанской опытной станции ВИР, совместно с которой проводилась работа. Анализировали 12 вариантов всхожих и потерявших всхожесть семян: высокогетерозисный гибрид Ki213 x OS4005, низкогетерозисный гибрид ДК291 x ДК251, самоопыленные линии Ki213, OS4005, ДК291, ДК251 (всхожесть 90%, год репродукции 1996); гетерозисный гибрид КР362 (всхожесть 90%, год репродукции 2001); гетерозисный гибрид В73 x МО17; негетерозисный гибрид В73 x В37; самоопыленные линии В73, МО17, В37 (всхожесть 0%, год репродукции 1989). Опыты проводили в течение 5 лет, с 1997 по 2002 год.

Для опытов использовали семена кукурузы, которые набухали в течение 32 или 48 часов в чашках Петри на отстоянной водопроводной воде. Через каждые 4 или 12 часов (в зависимости от опыта) проводили измерения разности потенциалов.

Для определения разности потенциалов набухающих семян использовали измеритель разности биоэлектрических потенциалов растений, разработанный на кафедре ботаники и физиологии растений НГСХА (Рубцова и др., 1990), предназначенный для измерения напряжения постоянного тока источников малого напряжения с высоким входным сопротивлением, как в лабораторных, так и в полевых условиях.

Для определения РП набухающие семена вынимали из чашки Петри, обсушивали фильтровальной бумагой, и к полярным концам подводили электроды ЭВЛ-1МЗ с водной переходной насадкой и гигроскопическим фитильком, обеспечивающим мягкий контакт с семенем. Измерения РП проводили между зародышем и эндоспермом (з-э), областью корешка и

почечки зародыша (к-п), полярными концами тыльной стороны семени (т.с.). Измерительный электрод прикладывали к области корешка зародыша, а электрод сравнения подводился к эндосперму; в случае измерения РП зародыша электрод сравнения переносили на область почечки; при измерении на тыльной стороне – электрод измерения находился под областью корешка.

Исследование транспорта аминокислот набухающих семян кукурузы проводили с помощью гипсовых блоков, встроенных в эндосперм (по Рубцовой, 1975, 2002). Блоки готовили из $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ разведением водой до консистенции густого теста, $\text{pH}=6,6$; что соответствует pH эндосперма. По истечении времени экспозиции (каждые 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 часа) блоки вынимали, помещали в бюксы с 5 мл этилового спирта и оставляли «настаиваться» на 1 сутки для выхода в спирт аминокислот и до проведения анализа на содержание аминокислот.

Интенсивность дыхания набухающих семян кукурузы определяли по методу Бойсона-Иенсену (Третьяков, 1990).

Активность аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы и пероксидазы по Поволоцкой и Седенко.

Активность каталазы определяли газометрическим методом (Третьяков, 1990).

Биологическая повторность 8-10 кратная, определяли средние арифметические, их стандартные ошибки, коэффициент корреляции между исследуемыми показателями (r).

Результаты обрабатывались на персональном компьютере с помощью пакетов программ Microsoft Excel 7.04 Stand Bat (MS-DOS).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Полученные в данной работе результаты свидетельствуют о том, что РП определенным образом изменяется в течение периода набухания у всхожих и невсхожих семян высоко- и низкогетерозисных гибридов, а также их исходных самоопыленных линий и взаимосвязана с прохождением ряда физиологических процессов.

Анализ изменений РП (з-э, к-п, т.с.) и выхода аминокислот из алейронового слоя в эндосперм всхожих и невсхожих семян высокогетерозисного гибрида Ki213 x OS4005, низкогетерозисного гибрида ДК291 x ДК251 и их исходных самоопыленных линий показал, что РП набухающих семян медленно изменяется по величине и знаку (рис.1-3). Существует определенная закономерность в изменениях РП и выходом АК из алейронового слоя в эндосперм семян: чем более жизнеспособно семя (повышенная жизнеспособность, гетерозис), тем теснее связь между изучаемыми показателями.

У всхожих семян высокогетерозисного гибрида Ki213 x OS4005 (рис.1) согласование между динамикой РП (з-э, к-п, т.с.) и содержанием АК наблюдается после 16 и далее часов набухания; коэффициент корреляции при этом равен 0,82. Для всхожих семян низкогетерозисного гибрида ДК291 x ДК251 (рис.2) согласование между этими показателями выявлено только в интервале от 12 до 24 часов набухания; $r=0,41$.

На рис.3 представлены данные изменения РП (з-э, к-п, т.с.) и выхода АК из алейронового слоя в эндосперм у набухающих невсхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы В73 x МО17 в течение 32 часов набухания. Эти данные свидетельствуют об отсутствии согласования исследуемых показателей, $r=0,29$; корреляции не было и у невсхожих семян низкогетерозисного гибрида В73 X В37, $r=0,32$.

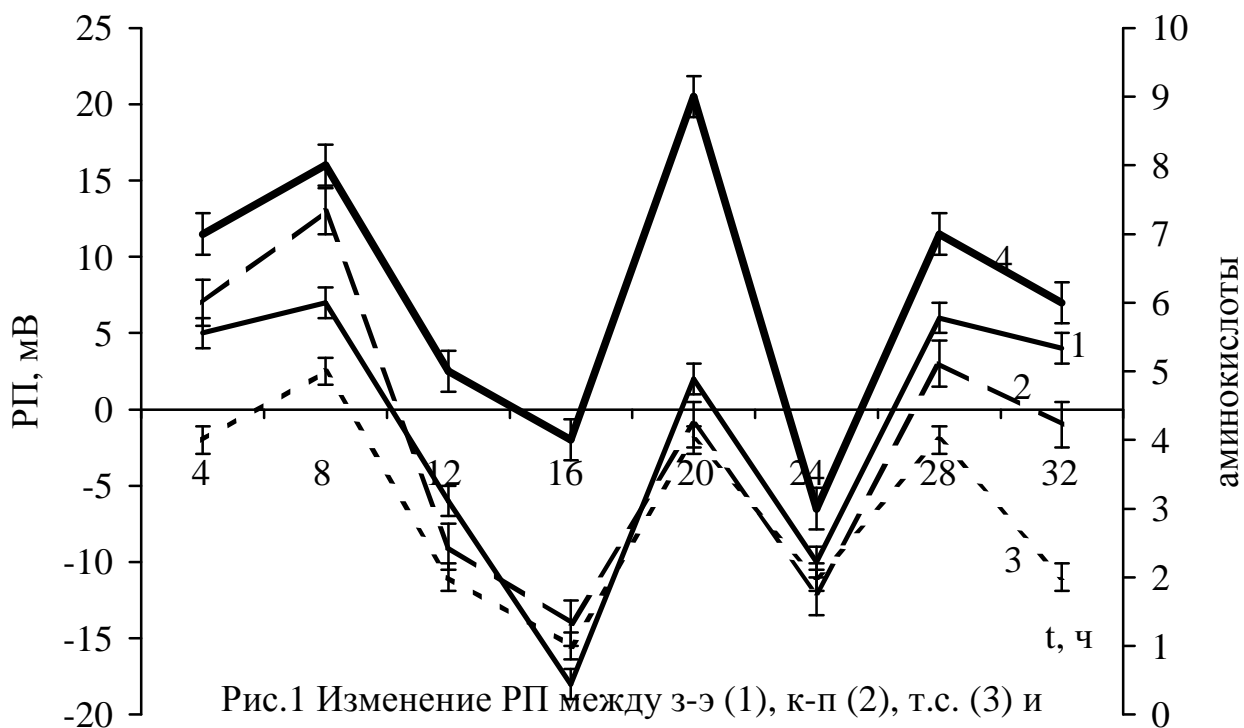


Рис.1 Изменение РП между з-э (1), к-п (2), т.с. (3) и суммарного содержания аминокислот в мг на 10 блоков из 10 эндоспермов (4) всхожих семян высокогетерозисного гибрида Ki213 x OS 4005 в зависимости от времени набухания; $r=0,82$.

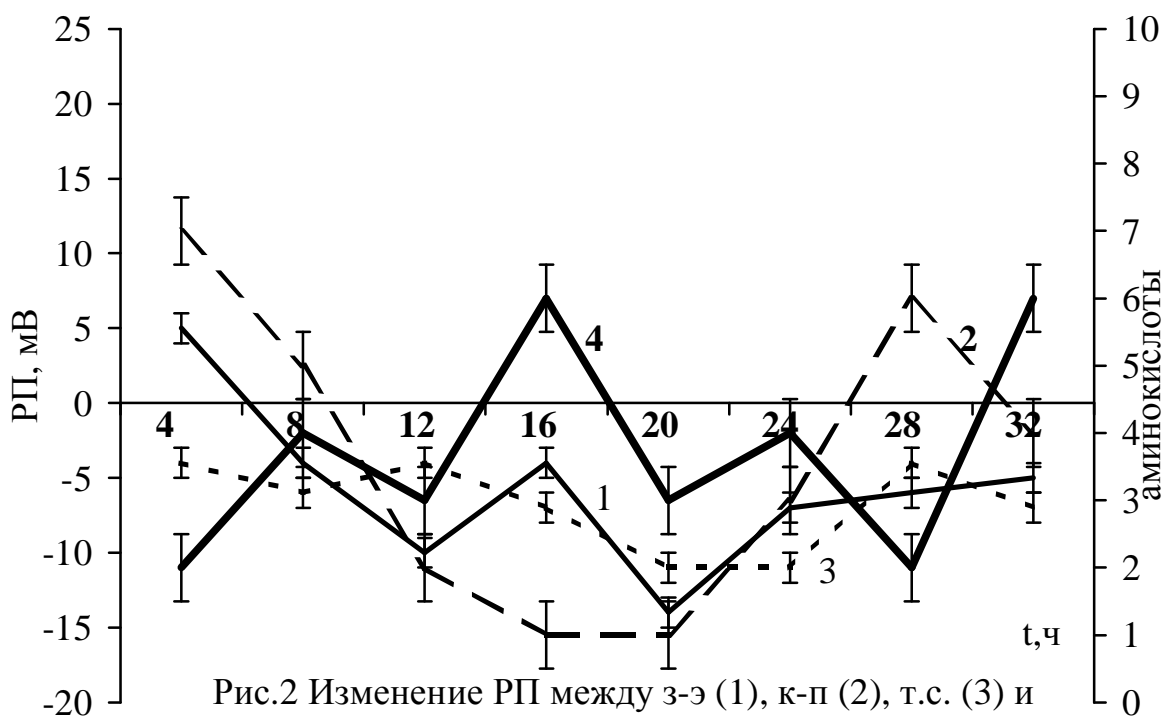


Рис.2 Изменение РП между з-э (1), к-п (2), т.с. (3) и суммарного содержания аминокислот в мг на 10 блоков из 10 эндоспермов (4) всхожих семян низкогетерозисного гибрида ДК291 x ДК251 в зависимости от времени набухания; $r=0,41$.

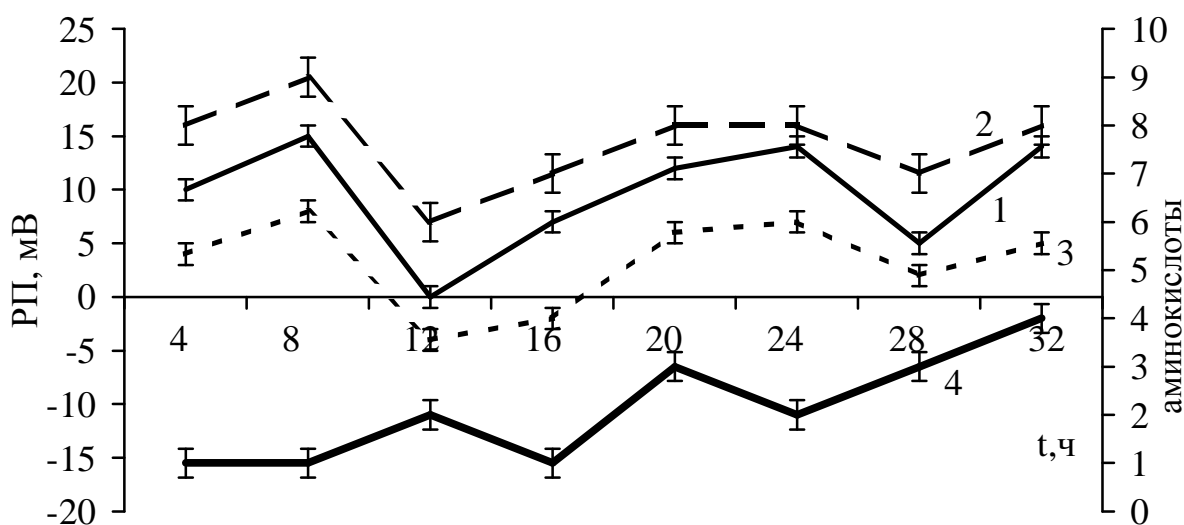


Рис.3 Изменение РП между з-э (1), к-п (2), т.с. (3) и суммарного содержания аминокислот в мг на 10 блоков из 10 эндоспермов (4) невсхожих семян высокогетерозисного гибрида В73 x МО17 в зависимости от времени набухания; $r=0,29$.

Полученные результаты показали, что для всхожих семян высокогетерозисного гибрида наблюдается высокая корреляция между изменениями РП (з-э, к-п, т.с.) и выходом АК из алейронового слоя в эндосперм семени, связь между этими показателями усиливается после 16 часов набухания, т.е. при переходе к активному метаболизму. Эта связь нарушается для всхожих семян низкогетерозисного гибрида и практически отсутствует у многих всхожих и невсхожих семян самоопыленных линий. Гипотеза о ведущей роли метаболических осцилляций группы клеток, синхронизированных за счет быстрой диффузии критических метаболитов в соседние клетки, в механизме биологических часов разрабатывается достаточно давно (Селькова, 1978; Павлидис, 1984). В литературе имеются указания (Опритов, 1991), что биопотенциалы выступают как осцилляторы биохимических процессов. У семян пшеницы осцилляция слабая в начальные периоды набухания и

усиливается в период активного метаболизма (Федулина, 1999). Нам представляется оправданным рассмотрение в качестве ведущего процесса в метаболизме электрических осцилляций.

Таким образом, у всхожих семян высокогетерозисного гибрида осциллирующая функция РП выражена наиболее четко, по сравнению с остальными исследуемыми вариантами.

Наши исследования были направлены также на изучение связи осцилляций РП набухающих семян с такими биохимическими показателями, как интенсивность дыхания и активность ферментов (аскорбатоксидаза, полифенолоксидаза, пероксидаза, каталаза). Эти ферменты были выбраны нами в связи с тем, что в качестве активной группы они имеют металлы-магнетики: *медь и железо*.

На рис.4; 5 представлены данные изменений РП (з-э) и интенсивности дыхания для всхожих и невсхожих семян высокогетерозисного, низкогетерозисного гибридов и самоопыленной линии. Видно, что для всхожих семян высокогетерозисного гибрида КР362 (рис.4) и самоопыленной линии W64 (рис.5) процессы изменения интенсивности дыхания и РП (з-э) идут с одинаковой периодичностью и связаны прямой зависимостью, коэффициент корреляции при этом равен 0,8; 0,74; соответственно. Для невсхожих семян высокогетерозисного гибрида В73 x МО17 (рис.4) и самоопыленных линий W64 (рис.5) этой зависимости нет; $r=0,55$; $r=0,35$; соответственно.

На рис.6-9 представлены данные по изменению активности аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, пероксидазы, каталазы и РП (з-э) при набухании у всхожих и невсхожих семян высокогетерозисных гибридов кукурузы.

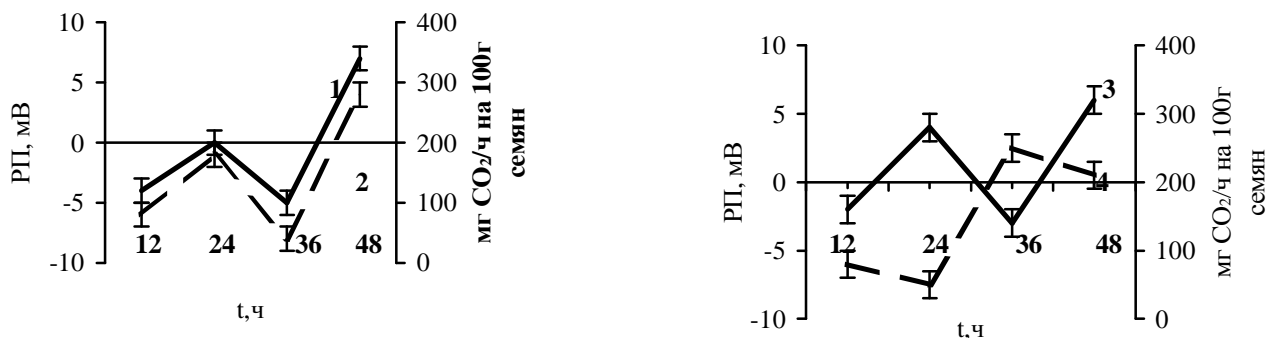


Рис.4 Изменение РП з-э (1), интенсивности дыхания (2) всхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы КР362; $r=0,80$ и изменение РП з-э (3), интенсивности дыхания (4) невсхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы В73 х МО17; $r=0,55$ в зависимости от времени набухания.

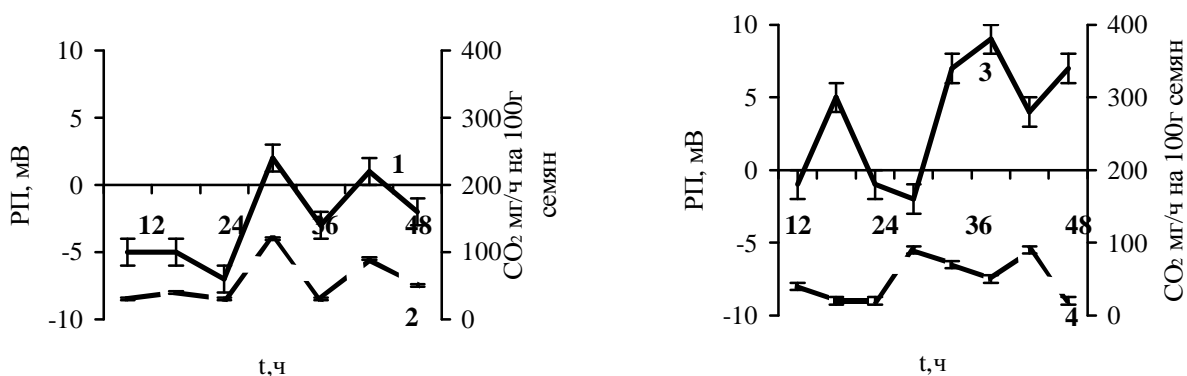


Рис.5 Изменение РП з-э (1), интенсивности дыхания (2) всхожих семян самоопыленной линии кукурузы W64; $r=0,74$, и изменение РП з-э (3), интенсивности дыхания (4) невсхожих семян самоопыленной линии кукурузы W64; $r=0,35$ в зависимости от времени набухания.

Активность фермента аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, пероксидазы и каталазы для всхожих семян высокогетерозисного гибрида КР362 (рис.6-9) в течение 48 часов набухания имеют тесную связь с РП; $r=0,80$; $0,75$; $0,75$; $0,80$; соответственно. Для невсхожих семян высокогетерозисного гибрида В73 х МО 17 изменение активности аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, каталазы не согласуется с динамикой РП; $r=0,45$; $0,53$; $0,47$; соответственно. Исключение составляет пероксидаза, т.к. изменение ее активности у всхожих и невсхожих семян согласуется с изменениями РП; $r=0,72$. Не являясь конечной оксидазой,

она использует для окисления «внутренний» кислород, образовавшийся при разложении перекиси водорода. В условиях снижения жизнеспособности семян субстрат для пероксидазы имеется в достаточном количестве, что может быть одной из причин сохранения ее активности; вторая причина может быть связана с устойчивостью белка – носителя.

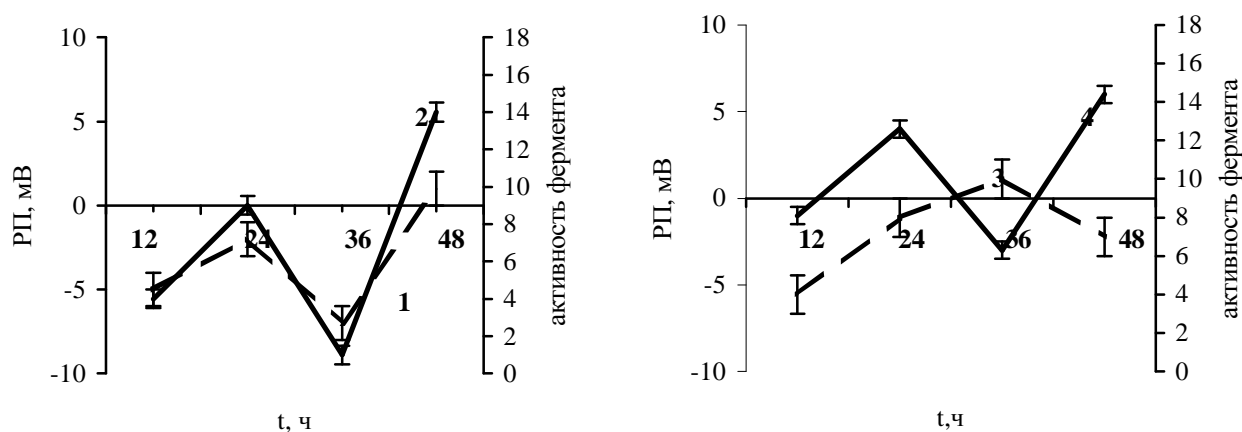


Рис.6 Изменение активности аскорбатоксидазы в мг окисленной аскорбиновой кислоты за 30 минут на 0,5г массы зародыша (1), РП з-э (2) всхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы КР362; $r=0,80$ и изменение активности аскорбатоксидазы (3), РП з-э (4) невсхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы В73хМО17; $r=0,45$ в зависимости от времени набухания.

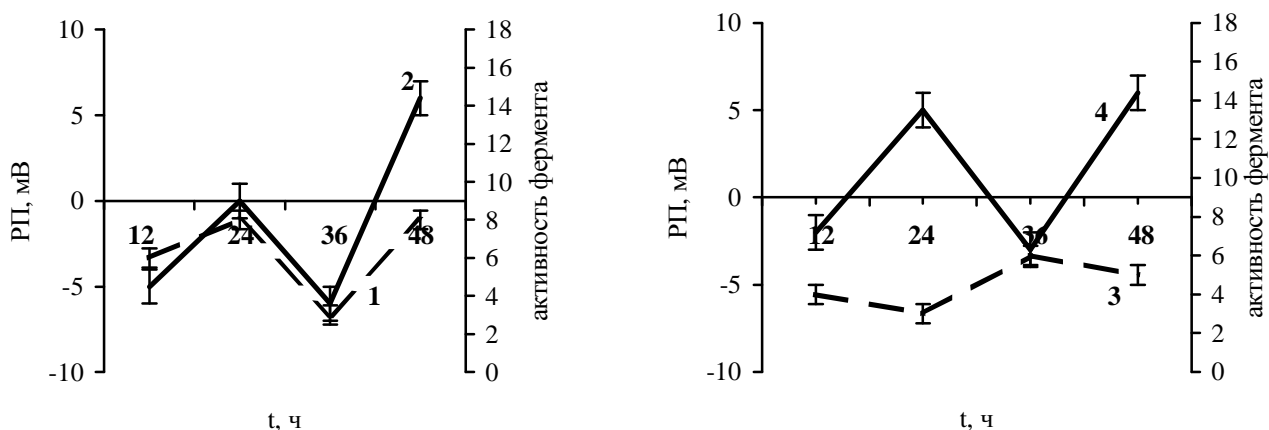


Рис.7 Изменение активности полифенолоксидазы в мг окисленной аскорбиновой кислоты за 30 минут на 0,5г массы зародыша (1), РП з-э (2) всхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы КР362; $r=0,75$ и изменение активности полифенолоксидазы (3), РП з-э (4) невсхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы В73хМО17; $r=0,53$ в зависимости от времени набухания.

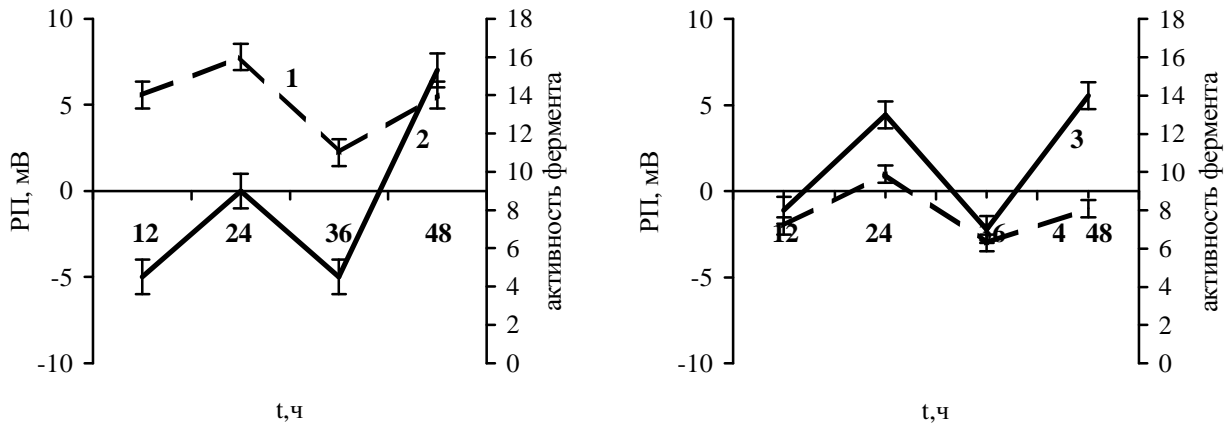


Рис.8 Изменение активности пероксидазы в мг окисленной аскорбиновой кислоты за 30 минут на 0,5г массы зародыша (1), РП з-э (2) всхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы КР362; $r=0,75$ и изменение активности пероксидазы (3), РП з-э (4) невосхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы В73хМО17; $r=0,72$ в зависимости от времени набухания.

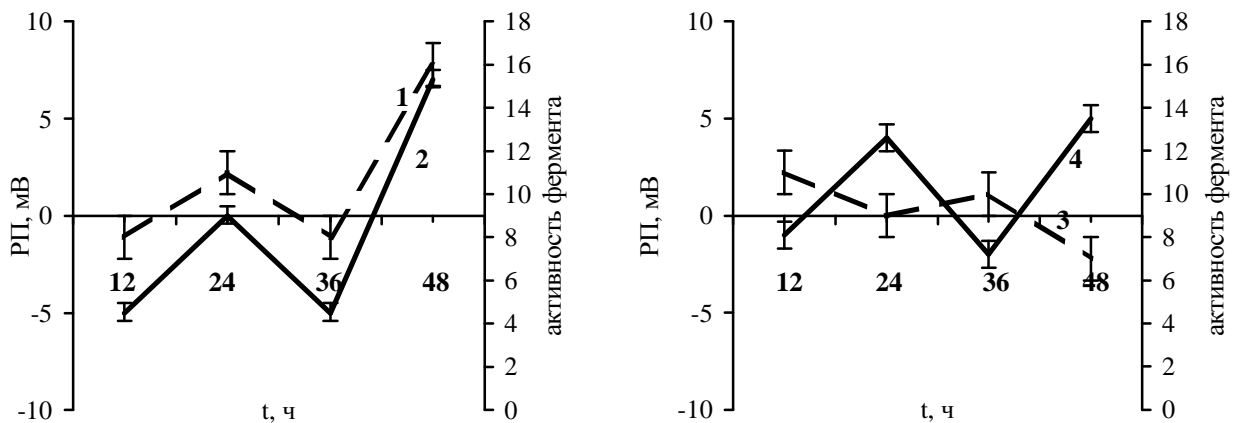


Рис.9 Изменение активности каталазы в мг выделенного кислорода за 3 минуты на 0,5г массы зародыша (1), РП з-э (2) всхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы КР362; $r=0,80$ и изменение активности каталазы (3), РП з-э (4) невосхожих семян высокогетерозисного гибрида кукурузы В73хМО17; $r=0,47$ в зависимости от времени набухания.

Таким образом, существует тесная связь между изменением РП, интенсивности дыхания, активности аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, пероксидазы, каталазы для всхожих семян и отсутствие таковой, за редким исключением (пероксидаза), для невосхожих семян. Учитывая результаты, мы считаем, что как активная

группа исследуемых ферментов, так и белковый носитель осциллируют с РП.

Подводя итог вышеизложенному, можно сказать, что существует связь между динамикой РП и физиологическими процессами, а именно: гидролизом белка в алейроновом слое и транспортом аминокислот в эндосперм, дыханием, изменением активности ряда ферментов, в зародыше набухающих семян кукурузы. Она меняется в зависимости от времени набухания. Наиболее четко данная связь прослеживается у всхожих семян высокогетерозисного гибрида, нарушается у всхожих семян низкогетерозисного гибрида и самоопыленных линий и практически отсутствует у невсхожих семян. По-видимому, данный факт обусловлен нарушением осциллирующей функции РП, осуществляющейся через активные группы и белок-носитель ферментов. Поскольку при снижении жизнеспособности зародыша семени белок становится менее активным, а при потере всхожести начинается его денатурация, нарушаются и его функции в отношении осцилляции. Для подтверждения тесной связи между РП и жизнеспособностью семян нами была применена обработка семян самоопыленных линий кукурузы аскорбатом с целью повышения всхожести. Из литературных данных известно (Рубцова и др., 1976,1991), что обработка семян линий кукурузы приводила к повышению всхожести с 5 до 30% у 80% семян, имевших низкую всхожесть. У большинства гибридов наблюдали аналогичное действие аскорбата на всхожесть, но исключение могли составить высокогетерозисные гибриды, на всхожесть семян которых аскорбат оказывал отрицательное действие.

На рис. 10 представлены данные по динамике РП набухающих семян самоопыленной линии кукурузы ВИР44 и V390. Под влиянием 0,05% раствора аскорбата РП набухающих семян самоопыленной линии кукурузы ВИР44 смещалась в область более отрицательных значений по сравнению с первоначальными, что совпадало с повышением всхожести с

80% до 85%. У семян самоопыленной линии V390 изменение РП под действием аскорбата в отрицательную область наблюдалось после 16 часов набухания, при этом всхожесть увеличивалась в 2 раза.

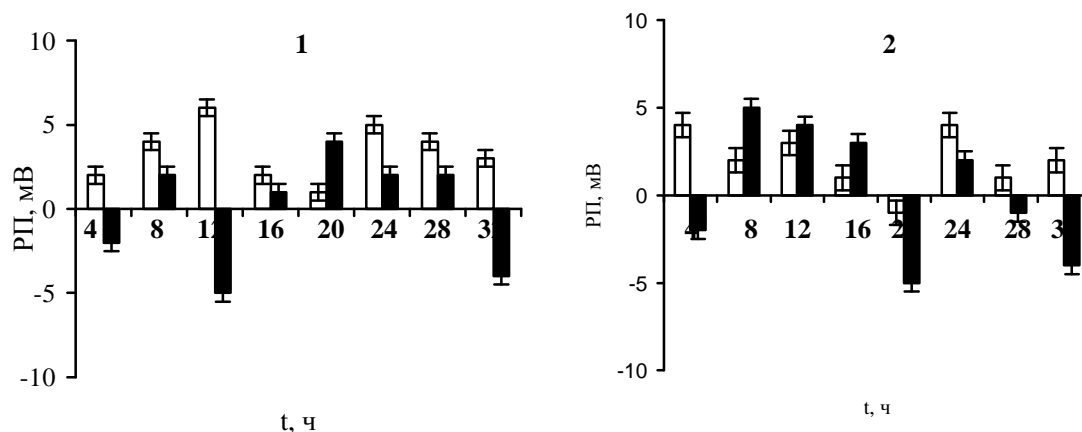


Рис.10 Изменение РП между зародышем и эндоспермом всхожих семян самоопыленных линий кукурузы ВИР44 (1) и V390 (2) под действием 0,05% раствора аскорбата (<) по сравнению с водным контролем (1) в зависимости от времени набухания.

Как видно из рисунка 10 действие 0,05% раствора аскорбата может вызвать изменение РП на ранних этапах набухания (до 16-20 часов) как в отрицательную область, так и положительную; в последующие периоды наблюдается смещение РП только в отрицательную область, что у всхожих семян заканчивается проклевыванием корешка. Следует отметить, что работами М.С.Рубцовой (1972) было показано, что с увеличением отрицательной РП семян кукурузы продуктивность растений возрастает, но до определенной РП (оптимальной). Семена с более отрицательной РП не давали хороших результатов. Растения, выросшие из семян с оптимальной РП, опережали в росте, образовании початков и цветении метелки. Было установлено, что обработка аскорбатом семян самоопыленных линий и гибридов кукурузы приводит к повышению интенсивности дыхания даже у потерявших всхожесть семян (табл.).

Изменение интенсивности дыхания у невсхожих семян гибридов и самоопыленных линий кукурузы, обработанных 0,05% раствором аскорбата, по сравнению с водным контролем.

Варианты	Интенсивность дыхания, CO ₂ мг/ч на 100г сырой массы; ВОДА	Интенсивность дыхания, CO ₂ мг/ч на 100г сырой массы; АСКОРБАТ
В73	68,6±1,9	114,4±2,2
МО17	68,6±2,4	80,0±1,8
В73xМО17	19,6±1,3	34,3±1,4

Таким образом, в случае повышения всхожести под действием аскорбата уже на ранних стадиях набухания семян линий и гибридов происходит изменение РП в отрицательную область, т.е. энергетические возможности возрастают. Из литературы также известно, что экзогенный аскорбат обладая антиоксидантным свойством может положительно влиять на растительные клетки (Часов, 2002).

Предполагаем, что изменения жизнеспособности семян кукурузы возможно контролировать на ранних этапах набухания с помощью биопотенциалов. Работами М.С.Рубцовой с сотрудниками (1980) было показано, что при хранении семян кукурузы наблюдается изменение РП в область положительных значений, исследовали РП семян через 24 часа набухания. Нами установлено, что уже начальные этапы набухания могут дать информацию о функциональном состоянии семян. В качестве примера на рис. 11 приведены данные для семян самоопыленной линии В73 при набухании в течение 12 часов, с разными сроками хранения (в течение трех и девяти лет). Семена неоднородны по РП, изменения их РП подчиняются кривой Гауса. При снижении жизнеспособности и всхожести семян (у долгохранившихся семян) кривая РП, как показано на графике, смещается в положительную область значений.

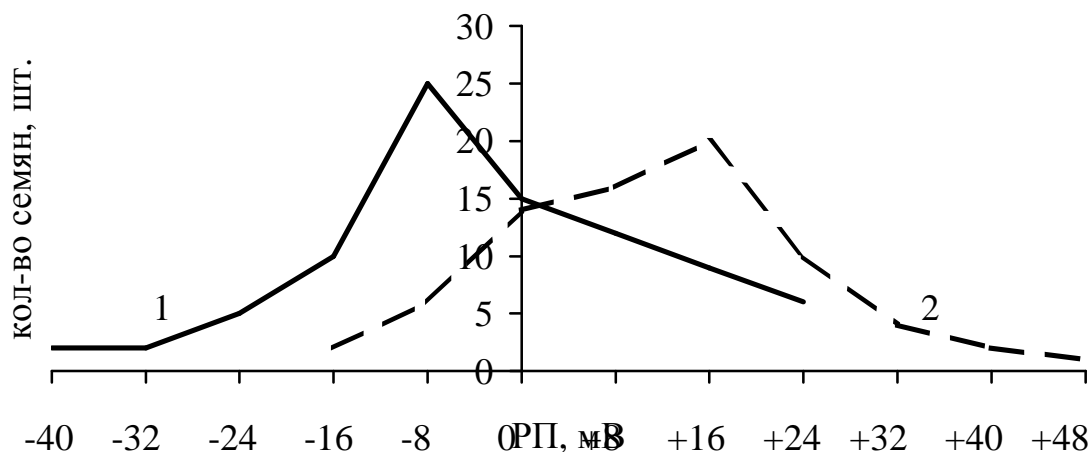


Рис.11 Распределение семян самоопыленной линии В73 по РП через 12 часов набухания; семена хранились 3 года (1) и 9 лет (2).

Мы предполагаем, что это может быть связано, в частности, со снижением уровня РНК и торможением физиологических процессов в зародыше. Из литературы известно, что по мере набухания семян происходит увеличение отрицательной РП, что вероятно связано с интенсификацией ростовых процессов в зародыше. Подтверждением служат опыты с инфильтрацией РНК-азы в набухшие семена самоопыленных линий кукурузы. Показано, что под влиянием РНК-азы наряду с уменьшением содержания РНК в семенах кукурузы происходит смещению РП в положительную область, снижение всхожести семян и замедление интенсивности роста растений самоопыленных линий (Рубцова, 1972).

Для контроля за физиологическим состоянием семян, находящихся на хранении, особенно самоопыленных линий, рекомендуем периодическое измерение их РП в период от 4 до 12 часов набухания, после чего семена можно подсушить и продолжить хранение.

Заключение.

В работе представлены данные исследований процессов, протекающих в зародыше семени кукурузы, и биопотенциалов. Мы предполагаем, что мощность ростовых процессов обеспечивается согласованием биоэлектрических потенциалов и важнейших физиологических процессов, идущих с участием ферментов. Нами были исследованы в динамике такие показатели как разность потенциалов (РП), гидролиз белка (по выходу аминокислот из алейронового слоя в эндосперм и зародыш), интенсивность дыхания и активность ферментов (аскорбатоксидаза, полифенолоксидаза, пероксидаза, каталаза). Было показано, все вышеперечисленные показатели имеют четкое сходство изменений у семян высокогетерозисных гибридов кукурузы. Следует отметить, что это исключительные по своей ростовой и продуктивной мощности растения. У семян низкогетерозисных гибридов кукурузы согласование данных показателей нарушается. Для невсхожих семян кукурузы согласование указанных показателей отсутствовало за исключением варианта с ферментом пероксидазой; по-видимому способность её к адаптации позволяет иметь согласование с биопотенциалами у семян теряющих всхожесть. Исходя из полученных нами данных, считаем, что сходство в изменении биопотенциалов и процессов, протекающих в зародыше, могут быть использованы для характеристики меристем зародыша и оценки способности к ростовым процессам и их мощности. Анализ коррелятивных соотношений биоэлектрических потенциалов и физиологических процессов может оказаться эффективным для разработки быстрого метода диагностики физиологического состояния семян самоопыленных линий при хранении.

Можно заключить, что при понижении жизнеспособности семян кукурузы происходит снижение корреляции биоэлектрических потенциалов с физиологическими изменениями, что приводит к хаотичности процессов.

Для практического использования полученных данных нами был предложен способ оценки жизнеспособности семян самоопыленных линий кукурузы, находящихся на хранении, путем определения РП семян при их набухании до 12 часов. После этого семена подсушивают и продолжают хранение, что важно в случае контроля за состоянием семян самоопыленных линий, являющихся ценным исходным материалом для получения гетерозисных гибридов в селекции. Институтом патентной экспертизы РФ на предложенный способ выдан патент.

Выводы

1. Выявлена тесная связь между динамикой разности потенциалов и выходом аминокислот из алейронового слоя в эндосперм всхожих набухающих семян кукурузы и отсутствие таковой при набухании у невсхожих.
2. Прослеживается тесная связь биопотенциалов и дыхания. у всхожих набухающих семян кукурузы, в случае невсхожих она отсутствует.
3. Выявлено наличие высокой корреляции между биопотенциалами и активностью окислительных ферментов (аскорбатоксидаза, полифенолиоксидаза, пероксидаза) и фермента каталазы. Она четко прослеживается у всхожих семян и практически отсутствует при потере всхожести (у нежизнеспособных семян), за исключением пероксидазы.
4. При снижении жизнеспособности и всхожести семян самоопыленных линий происходит смещение разности потенциалов в более положительную область значений.
5. При обработке набухающих семян самоопыленных линий кукурузы аскорбиновой кислотой в целях повышения всхожести наблюдается четкое изменение РП после 16-20 часов набухания в область отрицательных значений, что сопровождается повышением всхожести.
6. Для контроля за жизнеспособностью семян самоопыленных линий кукурузы, находящихся на хранении, рекомендуем периодическое

измерение их разности потенциалов в период от 4 до 12 часов набухания. Изменение их РП в положительную область свидетельствует о начавшихся физиологических изменениях, связанных с потерей жизнеспособности.

Основные результаты и положения диссертации изложены в следующих публикациях:

1. Рубцова М.С., Лебедева О.Р., **Кошишова Ю.Н.** Превращение белков и разность потенциалов (РП) в прорастающих семенах кукурузы с связи с гетерозисом // Материалы 2-ого международного симпозиума «Физико-химические основа функционирования белков и их комплексов». Воронеж, 1998. С.203-206.
2. **Кошишова Ю.Н.**, Рубцова М.С. Изменение разности потенциалов семян кукурузы при хранении и потере всхожести // Сборник научных трудов НГСХА «Пути повышения урожайности сельскохозяйственных культур». Н.Новгород, 2001. С.31-32.
3. Рубцова М.С., **Кошишова Ю.Н.** Влияние аскорбата на всхожесть, дыхание и биопотенциалы семян гибридов и самоопыленных линий кукурузы // Сборник научных трудов НГСХА «Физиология, электрофизиология, ботаника и интродукция сельскохозяйственных растений». Н.Новгород, 2001. С.117-123.
4. **Кошишова Ю.Н.**, Рубцова М.С. Изменение разности потенциалов семян кукурузы при хранении // Тезисы докладов 2-ой международной конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы современной науки», часть 2. Самара, 2001. С.67.
5. **Кошишова Ю.Н.**, Рубцова М.С., Лебедева О.Р. Биопотенциалы, активность ферментов всхожих и потерявших всхожесть семян гибридов кукурузы // Тезисы доклада 6-ой Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология-наука 21-ого века». Пущино, 2002. С.125.

6. Рубцова М.С., Крутова Е.К., **Кошишова Ю.Н.** Перспектива использования разности биоэлектрических потенциалов растений как показателя для экологических наблюдений // Материалы международной научно-практической конференции «Биологические аспекты интенсификации сельскохозяйственного производства», том 1. Пенза, 2002. С.69-70.
7. Рубцова М.С., Крутова Е.К., Федулина С.Б., **Кошишова Ю.Н.** Использование показателя разности потенциалов (РП) для разработки экологически чистых методов диагностики хозяйственно-полезных признаков у сельскохозяйственных растений // Первая научно-практическая конференция «Проблемы регионального экологического мониторинга». Нижний Новгород, 2002. С. 112-115.
8. Rubtsova M.S., **Koshishova Y.N.** Potential difference of the seeds of selfpollinated corn lines in the vital estimation in storage // The materials of International symposium `Signalling systems of plant cells`. Moscow, 2001, June, 5-7. P.104.
9. **Кошишова Ю.Н.**, Рубцова М.С. Изменение биопотенциалов, активности ферментов, интенсивности дыхания у семян гибридов кукурузы при потере всхожести // Межвузовский сборник, посвященный 60-и летию Ульяновской сельско-хозяйственной академии «Физиолого-биохимические аспекты обработки семян сельскохозяйственных культур». Ульяновск, 2003. С.98-102
10. Рубцова М.С., **Кошишова Ю.Н.** Способ оценки жизнеспособности семян самоопыленных линий кукурузы // Патент на изобретение №2222181 от 27.01.2004.
11. Рубцова М.С., **Кошишова Ю.Н.**, Лебедева О.Р. Разность потенциалов семян кукурузы и возможность использования этого показателя для оценки физиологического состояния // Тезисы доклада третьего съезда биофизиков России, том 2. Воронеж, 2004. С.383-384.