

ВЫХОД СЕМЯН КОНСКОГО КАШТАНА ИЗ ГЛУБОКОГО ПОКОЯ И АКТИВАЦИЯ ПЛАЗМАЛЕММНОЙ H^+ -АТФазы

Н.В. Обручева, И.А. Синькевич, С.В. Литягина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, *Sinkevich.ia@mail.ru, obroucheva@ippras.ru*

Аннотация. В семенах конского каштана выход из покоя в условиях холодной стратификации происходит в два этапа: ослабление покоя зародыша и покоя, обусловленного кожурой. Окончание покоя зародыша связано, по-видимому, с переходом плазмалеммной H^+ -АТФазы из самоингибированного в активное состояние, тогда как выход из покоя, обусловленного кожурой, сопровождается активацией фермента.

Ключевые слова: конский каштан, выход из покоя, покой зародыша, покой, обусловленный кожурой, плазмалеммная H^+ -АТФаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-575-579

В предыдущей статье (см. Обручева и др. в этом сборнике) было показано, что плазмалеммная H^+ -АТФаза является ключевым ферментом в прорастании семян разного типа, осуществляя вынос H^+ ионов из цитоплазмы в клеточные оболочки; подкисление оболочек приводит к разрыхлению их структуры и повышению растяжимости, что способствует растяжению клеток осевых органов и началу прорастания. Данная статья посвящена изучению семян конского каштана в состоянии глубокого физиологического покоя и выхода из него, завершающегося прорастанием, а также активности плазмалеммной H^+ -АТФазы в осевых органах зародыша в этот период.

Семена конского каштана были выбраны потому, что они прорастают до длины 3-3,5 см в результате только растяжения клеток, а деления в меристеме корня начинаются по достижении этой длины [Obroucheva, 1999]. Прорастание семян каштана – удобная модель для изучения начальных этапов прорастания. Физиологические особенности этого объекта обусловлены тем, что конский каштан принадлежит к так называемым рекальцитрантным семенам, то есть к семенам, погибающим от потери воды после опадения. Такие семена распространены, главным образом, в тропиках и субтропиках, и приспособлены к быстрому прорастанию после опадения [Obroucheva et al., 2016]. В условиях Европы и центральной России семена конского каштана уходят осенью и зимой в состояние покоя и прорастают весной. Для наших опытов семена собирали в Москве на территории Главного Ботанического сада РАН в начале октября и помещали в холодную камеру при 4 °С во влажный песок на весь период стратификации, поддерживая постоянную влажность песка. Такие семена уходят осенью в состояние глубокого физиологического покоя, из которого постепенно выходят в течение стратификации (до 16 недель) и приобретают способность быстро прорасти даже при температуре 4 °С. Выход семян из покоя тестировали по их способности прорасти в оптимальных условиях в темноте при температуре 27 °С и достаточном водоснабжении. На рис. 1 показана динамика выхода семян конского каштана из покоя по ходу стратификации.

В ряде опытов интактные семена на разных сроках стратификации помещали в оптимальные условия прорастания и сравнивали динамику прорастания у них с семенами, у которых удаляли кожуру над корешком зародыша для облегчения поступления воды. На рис. 2 видно, что семена «с окошечком» прорастают гораздо быстрее, чем интактные семена «без окошечка», поскольку способность к прорастанию

не ограничена задержкой поступления воды. По разнице в прорастании между верхней и нижней кривой (заштриховано) можно судить о роли покоя, обусловленного наличием кожуры, в общей динамике выхода семян из покоя, а по площади под нижней кривой – о собственном покое зародыша. Следовательно, в течение первых 5-6 недель нахождение семян в глубоком покое обусловлено, главным образом, покоем самого зародыша, тогда как после этого срока главным компонентом покоя является задержка поступления воды к зародышу, то есть, покой, обусловленный кожурой. По-видимому, скорость выхода семян из покоя определяется приобретением кожурой проницаемости для воды.

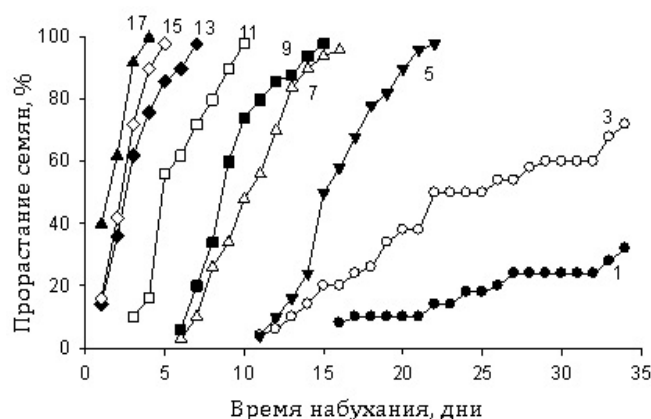


Рис. 1. Динамика прорастания целых семян конского каштана после различных сроков холодной влажной стратификации. Цифры на кривых обозначают недели стратификации.

Разное состояние осевых органов семян в период собственного покоя зародыша, во время проклевывания (после выхода из покоя) и в течение дальнейшего роста осевых органов (до длины 1.8-2.2 см) хорошо видно на рис. 3.

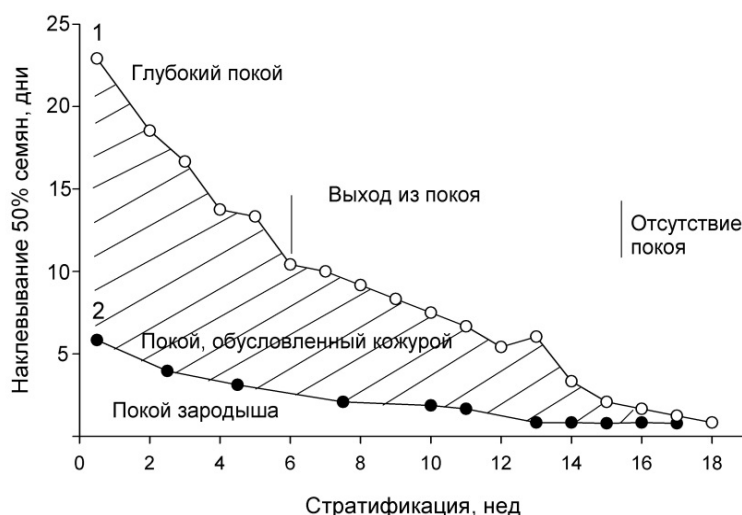


Рис. 2. Соотношение покоя зародыша и покоя, обусловленного кожурой, в стратифицируемых семенах каштана. 1 – накопление интактных семян, 2 – накопление семян с частично удаленной семенной кожурой.

Вес непроросших осевых органов, то есть находящихся в состоянии покоя, не превышает 70 мг. После проклевывания он составляет больше 100 мг, поскольку к этому времени кожура пропустила внутрь достаточно воды, чтобы влажность смогла возрасти до 65% на сырой вес. Цифры над кривыми показывают в сутках время

инкубации при 27 °С, за которое было достигнуто проклевывание; оно происходит относительно медленно в период собственного покоя зародыша (до 6 недель) и ускоряется в период покоя, наложенного кожурой, по мере поступления воды в семя.

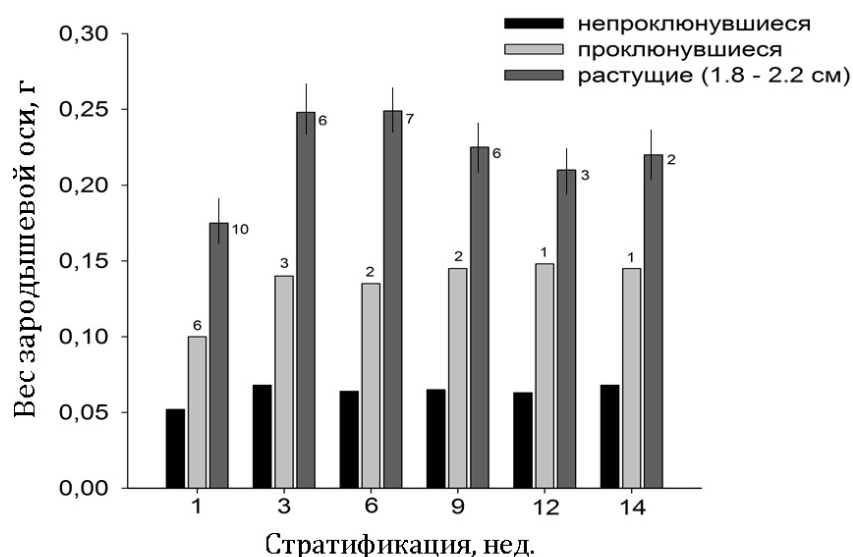


Рис. 3. Вес зародышевой оси и растущих органов конского каштана в период покоя и выхода из него.

Рост осевых органов после проклевывания также происходит вначале медленно, но ускоряется к концу стратификации. Очевидно, что в течение собственного покоя зародыша вес осевых органов остается низким, и если такие семена все же проклевываются, то медленно, и рост после проклевывания также замедлен. Период выхода из покоя характеризуется постепенным снятием покоя, обусловленного кожурой, усиливающимся поступлением воды, ускорением проклевывания и роста после прорастания.

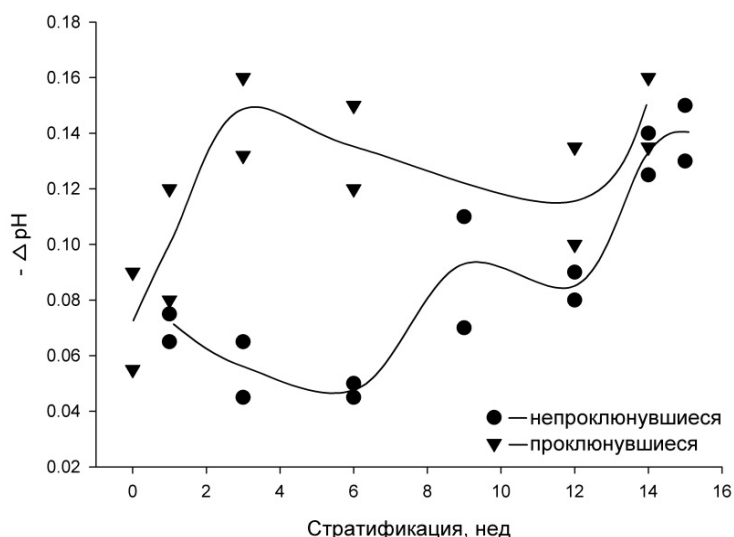


Рис. 4. Подкисление раствора осевыми органами каштана.

Далее была изучена способность осевых органов семян подкислять окружающий раствор, то есть была протестирована способность плазмалеммной H⁺-АТФазы выносить H⁺-ионы в апопласт и осуществлять подкисление клеточных оболочек, необходимое для начала растяжения клеток при прорастании. На рис. 4 видно, что в

непрораставшихся семенах, то есть в семенах, осевые органы которых находятся в состоянии собственного покоя и не способны прорасти в оптимальных условиях, происходит лишь слабое выделение H^+ -ионов.

К концу стратификации оно возрастает. В семенах, вышедших из состояния покоя, то есть прораставшихся, вынос H^+ -ионов происходит гораздо активнее, что подтверждает активацию плазмалеммной H^+ -АТФазы в семенах, у которых клетки осевых органов начали растягиваться. Активация фермента была продемонстрирована в опытах с эндогенным активатором и стабилизатором активности плазмалеммной H^+ -АТФазы фузикоцином [Camoni et al., 2013]. Осевые органы семян, извлеченные на разных сроках стратификации, проращивали в оптимальных условиях в воде и в 10^{-6} М растворе фузикоцина до прорастания, после чего в них измеряли способность к выносу H^+ -ионов по подкислению раствора. Из графика следует, что примерно до 5 недель, то есть в период собственного покоя зародыша, не происходит активации подкисления фузикоцином, тогда как в период выхода семян из покоя и перехода к прорастанию фузикоцин стимулирует активность фермента.

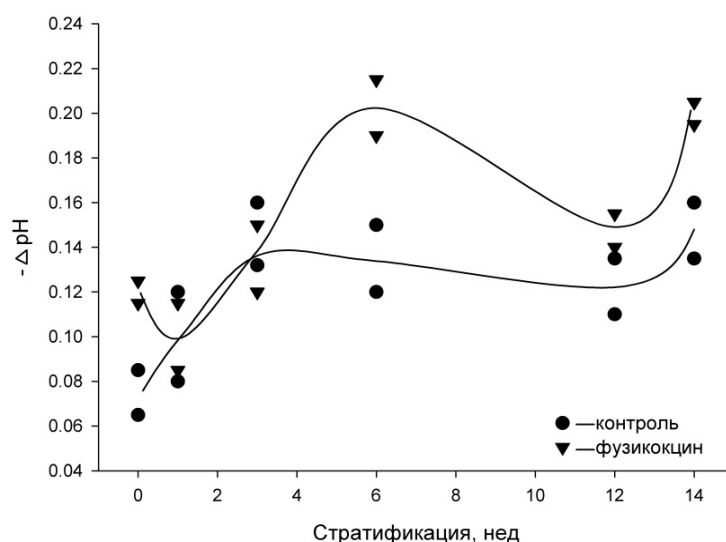


Рис. 5. Влияние фузикоцина (10^{-6} М) на подкисление раствора прораставшими осевыми органами каштана.

По приведенным данным можно сделать вывод, что собственный покой зародыша может быть обусловлен наличием плазмалеммной H^+ -АТФазы в осевых органах семян в самоингибированном состоянии, не реагирующем на действие фузикоцина. В последующий период, когда семена постепенно выходят из покоя в результате поступления воды через кожуру, происходит активация фермента, в которой принимает участие фузикоцин. Такая активация обеспечивает возможность разрыхления структуры клеточных стенок и начало прорастания.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00859.

Литература

- Camoni I., Visconti S., Aducci P. The phytotoxin fusicoccin a selective stabilizer of 14-3-3 interactions? // *Int. Union Biochem. Mol. Biol.* – 2013. – V. 65, No. 6. – P. – 513–517.
- Obroucheva N., Sinkevich I., Lityagina S. Physiological aspects of seed recalcitrance: a case study on the tree *Aesculus hippocastanum* // *Tree Physiol.* – 2016. – V. 36, No. 9. – P. – 1127–1150.
- Obroucheva N.V. Seed germination: a guide to the early stages // Backhuys Publishers, Leiden. – 1999.

DEEP DORMANCY RELEASE IN HORSE CHESTNUT SEEDS AND ACTIVATION OF PLASMALEMMA H^+ -ATPASE

N.V. Obroucheva, I.A. Sinkevich, S.V. Lityagina

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
Sinkevich.ia@mail.ru, obroucheva@ippras.ru

Abstract. In horse chestnut seeds, stratification-induced dormancy release occurs in two stages, namely by alleviation of embryo dormancy and coat-imposed dormancy. Loss of embryo dormancy appears to be related to the transformation of plasmalemma H^+ -ATPase from autoinhibited to active state while the release of coat-imposed dormancy is accompanied by enzyme activation.

Keywords: *horse chestnut, dormancy release, embryo dormancy, coat-imposed dormancy, plasmalemma H^+ -ATPase activation*