

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе проведено силилирование предгидролизованной костры льна и костры льна, подвергнутой взрывному автогидролизу, дихлордиметилсиланом. Полученные продукты идентифицированы с помощью качественного, количественного анализа и данных ИК-спектроскопии. Исследовано влияние продолжительности и температуры процесса силилирования дихлордиметилсиланом предварительно обработанной костры льна на прирост массы и содержание кремния. Определены оптимальные условия проведения процесса модифицирования, а именно: при проведении предварительной обработки предгидролизом продолжительность силилирования 5 часов, температура 50 °С. Прирост массы при этом составил 12,1 %, а содержание кремния 1,7 %; при проведении предварительной обработки взрывным автогидролизом: продолжительность сили-

лирования 5 часов, температура 40 °С. Прирост массы и содержание связанного кремния составили 7 и 2,4 %, соответственно.

Оценена термическая устойчивость продуктов модифицирования костры льна. Определены температуры начала потерь массы и при максимальной скорости разложения. Продукты силилирования костры льна, подвергнутой взрывному автогидролизу более термостойки во всем исследованном интервале температур.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ефанов М.В., Панченко О.А., Забелина А.В. //Химия растительного сырья. - 2004. - №3. - С. 95–97.
2. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. - М.: Экология, 1991. - 320с.
3. Гравитис Я.А. // Химия древесины. - 1987. - № 5. - С. 3-21.

## ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ У ЗЕМЛЯНИКИ И ВИШНИ

Т.В. Плаксина, О.В. Мочалова, А.Л. Верещагин, В.Н. Хмелев

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение влияния ультразвука (УЗ) на биологические объекты было начато еще в тридцатые годы прошлого столетия, но до сих пор не потеряло своей актуальности.

Степень и качество биологического действия ультразвукового облучения на клетки и ткани определяется главным образом интенсивностью фактора и длительностью облучения. Оно может быть как положительным, так и отрицательным. Ультразвук усиливает в тканях проницаемость клеточных мембран и диффузные процессы, меняет концентрацию водородных ионов, вызывает расщепление высокомолекулярных соединений, ускоряет обмен веществ. Происходит ионизация молекул воды, которые распадаются на свободные гидроксильные радикалы и атомарный водород. Температурное воздействие ультразвука происходит в результате превращения акустической энергии в тепловую. Ультразвук усиливает свое действие на границе двух сред, что может увеличить тепловой эффект в несколько раз [2, 6]

При умеренной интенсивности ультразвука в живых тканях явления кавитации практически не выражены и наблюдается лишь пульсация естественных пузырьков и усиление микропотоков жидкостей, прекращающихся при отключении генератора. Повышение интенсивности ультразвука может привести к выраженному процессу акустической кавитации с механическим разрушением клеток и тканей. Может проявиться перегрев биологических структур и их повреждение (например, денатурация белков). Известно, что в ультразвуковом поле происходит изменение структуры, формы и функции молекулы белка. В присутствии кислорода идет процесс деградации биомакромолекул, угнетение их биокаталитической деятельности. Данные процессы сопровождаются снижением вязкости растворов этих веществ [1, 2, 5, 9].

Для садовых культур положительное действие ультразвука на процесс укоренения черенков винограда было получено при применении ультразвукового аппарата «Волна». Особенно эффективным оказалось облучение водных растворов с добавлением регуляторов роста. Благодаря ультразвуковому ка-

## ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ У ЗЕМЛЯНИКИ И ВИШНИ

пиллярному эффекту наблюдалось достоверное многократное увеличение скорости роста побегов и корней, общей массы корневой системы [4]. УЗ успешно применяли при микроразмножении рябино-грушевых и малинно-ежевичных гибридов, сортовой ежевики для повышения процента ризогенеза [7].

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты по воздействию ультразвука на процесс ризогенеза проводили на розетках земляники сорта Сельва; черенках отборных форм церападусов – вишне-черемуховых гибридов ВЧ 89-95-48, ВЧ 89-95-50, полученных от скрещивания вишни степной с вишней Маака (F<sub>4</sub>); а также на черенках элитной формы вишни № 256.

Розетки земляники были взяты от размноженных в культуре ткани маточных растений. Розетки имели одинаковый размер и по 2-3 листа. Использовали несколько вариантов обработки: 1 – контроль, без обработки; 2 – обработка корневином®, СП (ООО «Агросинтез»); 3 – обработка ультразвуком (УЗ) с удельной мощностью облучения 75 Вт/дм<sup>3</sup> и временем воздействия 10 минут. Для ультразвукового облучения использовали аппарат «Волна» специализированный для обработки растительных объектов, конструкции В.Н. Хмелёва, с частотой механических колебаний 22±1,65 кГц [4].

После обработки розетки земляники высаживали в пластиковые контейнеры с речным песком. Сверху контейнеры закрывали полиэтиленовой пленкой, создавая эффект минитеплицы. Контейнеры размещали на стеллажах в вегетационной комнате, где установлен фотопериод 14 часов - день, 10 часов - ночь. Один раз в неделю проводили подкормку растений раствором минерального удобрения «Растворин» (1,5 г на 1 л воды). Показания по опытам были сняты через 5 недель после ультразвукового облучения.

Зеленое черенкование вишни и выращивание черенков проводили согласно технологии разработанной в НИИСС им. Лисавенко [11]. В контроле черенки вишни погружали в водный раствор ИМК (β-индолилмасляная кислота) с концентрацией 50 мг/л на глубину 2-3 см. В растворе черенки выдерживали 16 часов. В опытном варианте – черенки погружали в аналогичный раствор с ИМК и помещали в аппарат «Волна» (удельная мощность облучения 75 Вт/дм<sup>3</sup>, экспозиция - 5 мин.). Результаты вариантов опыта сняты через три месяца, когда черенки были выкопаны из субстрата для последующего хранения.

Для проведения цитологического анализа готовили временные давленные препараты

ты по общепринятой методике [8]. Апикальные кончики корней розеток земляники фиксировали в растворе Карнуа (3:1) в период от 11 до 12 часов утра. Окраску меристематических клеток после мацерации тканей проводили уксусным гематоксилином по методике ЦГЛ имени И.В. Мичурина [12]. Для определения митотического индекса просматривали по 4 корешка, 10 полей зрения в контрольном (без облучения) и опытном вариантах. Подсчитывали в каждом поле зрения количество делящихся клеток в интерфазе и их по всем фазам митоза, а потом общее количество клеток по всем корешкам и полям зрения. Митотический индекс, выраженный в промиллях (количество делений на 1000 клеток), подсчитывали по формуле:  $MI = [(П + М + А + Т) \times 1000] : (И + П + М + А + Т)$ , где, П – число клеток в профазе, М – в метафазе, А – в анафазе, Т – в телофазе, И – в интерфазе. Относительную длительность каждой фазы митоза определяли в процентах. Так, для профазы соответствующая формула выглядит следующим образом:  $П = (П \times 100) : (П + М + А + Т)$ . Достоверность различий цитологических вариантов опыта выявляли по коэффициенту Стьюдента (t), для этого по общепринятым методикам рассчитывали среднее значение (M) и ошибку средней (m). При обработке результатов исследований использованы методы статистического анализа [10], а также программа Microsoft Office Excel 2003.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У земляники в контроле процент укоренившихся розеток составил 96,2. После обработки корневином или ультразвуком наблюдали 100 % укоренение. Не выявлено достоверных различий между вариантами опытов по числу корней на одну розетку, общей длине основных корней, что видно на рисунках 1 и 2.

В опытах Р. Папихина и С. Муратовой [7] с микрочеренками ежевики сорта Блэк Сэтин также не было получено достоверных различий по числу корней в вариантах без обработки и после обработки УЗ. Обработка УЗ не влияла на длину корней микрорастений жимолости сорта Длинноплодная. Однако, в наших опытах, растения обработанные ультразвуком, имели более крупные листья и по высоте превосходили контрольные (рисунок 3). У растений обработанных ультразвуком отмечено образование многочисленных корней второго и третьего порядка (рисунок 4), чего не наблюдали ни в контроле, ни в варианте с корневином.

Таблица 1

Влияние ультразвукового облучения на митотический индекс апикальной меристемы корней розеток земляники сорта Сельва, 2010 г.

Вариант опыта	Ед. изм.	Количество клеток на стадиях митотического цикла					Митотический индекс (MI ‰)
		интерфаза	профаза	метафаза	анафаза	телофаза	
контроль	шт.	10389	203	196	95	95	53,56
	%	94,6	1,8	1,9	0,85	0,85	
ультразвук	шт.	12493	202	202	92	90	44,60
	%	95,6	1,5	1,5	0,7	0,7	

Таблица 2

Достоверность влияния ультразвукового облучения (коэффициент Стьюдента) на митотическую активность апикальной меристемы корней розеток земляники сорта Сельва, 2010 г.

№№ п/п	Вариант опыта	Всего клеток шт.	Делящихся клеток		Коэффициент Стьюдента (t <sub>1,2</sub> )	Клеток с нарушениями	
			всего, шт.	среднее, % (M ± m)		шт.	%
1	контроль	10977	588	5,36 ± 0,21	3,21 **	0	0
2	ультразвук	13074	564	4,46 ± 0,18		25	0,2

Примечание: \*\* P<sub>1</sub> < 0,01

Таблица 3

Влияние способов обработки на ризогенез зелёных черенков вишни

Вариант опыта	ВЧ 89-95-48			ВЧ 89-95-50			№ 256		
	Жизнеспособность, %	Каллусообразование, %	Укоренение, %	Жизнеспособность, %	Каллусообразование, %	Укоренение, %	Жизнеспособность, %	Каллусообразование, %	Укоренение, %
ИМК (контроль)	0	53 ±12,9	0	0	60 ±15,5	0	0	0	0
ИМК+УЗ	100	100	13,3 ±8,8	80 ±12,6	90 ±9,5	40 ±15,5	58,3 ±14,2	66,7 ±13,6	41,7 ±14,2

Таким образом, обработка ультразвуком использованной частоты оказала в целом благоприятное действие на рост и развитие корней и надземной части розеток земляники сорта Сельва.

Исследование митотической активности клеток меристемы апикальных кончиков корней у розеток земляники сорта Сельва после воздействия УЗ показало достоверное снижение количества клеток находящихся в митозе по отношению к общему числу клеток. Митотический индекс в варианте с озвучиванием снизился по сравнению с контролем. Он составил 44,60 ‰ и 53,56 ‰ соответственно. Достоверность (уровень вероятности) подавления митотической активности ультразвуком была на уровне P = 0,99 (таблицы 1,2).

Также в опыте с озвучиванием было найдено около 0,2 % клеток, имеющих нарушения в ходе митоза (таблица 2). Этого не наблюдали в контроле. Нарушения в боль-

шей степени были связаны уже с движением хромосом к полюсам, т.е. после прохождения метафазы. Наиболее часто встречались деления с отставанием по веретену деления 1-2 хромосом, хромосомные мосты, выбросы 1-2 хромосом за пределы веретена в цитоплазму. Кроме того, уже в единичных клетках были найдены характерные картины цитомиксиса, когда хромосомы по цитомитотическим каналам перетекали в цитоплазму соседней клетки.

Значения относительной длительности каждой фазы митоза, после озвучивания ультразвуком тоже показали некоторые незначительные отклонения от контрольных. Профаза и анафаза митоза имеют большую относительную длительность по сравнению с анафазой и телофазой, как в контроле, так и в опыте. Так, относительная длительность профазы составляет в контроле 34,5 и в опыте 34,3 %, а метафазы - 33,3 % и 34,5% соот-

## ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ У ЗЕМЛЯНИКИ И ВИШНИ

ветственно. Озвучивание вызывает некоторое удлинение метафазы по сравнению с контролем, но снижение относительной длительности анафазы и телофазы. Если в контроле длительность анафазы составляет 16,1%, то в опыте уже 15,7%. Соответственно для телофазы эти показатели лежат на уровне 16,1% и 15,4%.

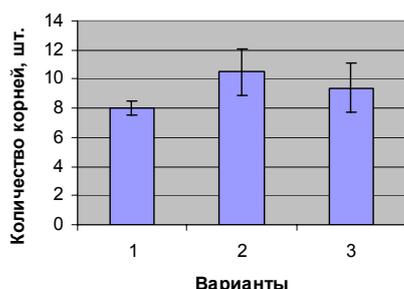


Рисунок 1. Количество корней у розеток земляники сорта Сельва: 1 – контроль; 2 –корневин; 3 – УЗ.

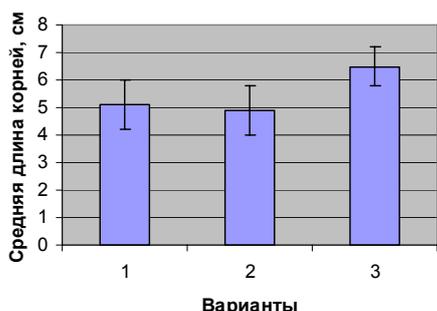


Рисунок 2. Длина корней у розеток земляники сорта Сельва: 1 – контроль; 2 –корневин; 3 – УЗ.

Возможно, что одним из клеточных механизмов, вызывающим подобные изменения в митотическом цикле, является нарушение функционирования белковых молекул в результате теплового шока. В частности, именно в метафазе происходит формирование веретена деления на основе белка тубулина. Наблюдается, как бы, более замедленная сборка нитей веретена, кроме того, в структуре веретена могут появляться нарушения, проявляющие себя уже на стадиях его функционирования в анафазе митоза. Возможно также понижение вязкости цитоплазмы, что приводит к относительному ускорению анафазы и телофазы. В целом, применяемые параметры воздействия ультразвуком не вызывают большого количества клеточных митотических нарушений и оказывают положительное воздействие на развитие корневой системы в целом.



Рисунок 3. Растения земляники через 5 недель после обработки УЗ (контроль слева).



Рисунок 4. Розетки земляники через 5 недель после обработки УЗ (контроль слева).

Сопоставляя полученные цитологические данные по прохождению митоза в корневой меристеме и морфологические данные по развитию розеток земляники можно предположить, что воздействие ультразвуком частично уменьшает апикальное доминирование в развитии корней первого порядка, но при этом стимулирует рост и развитие корней второго и третьего порядка. Это, в свою очередь, приводит к увеличению площади всасывания минеральных питательных веществ из почвы, увеличению общей массы корней, также как и надземной части розеток.

Для опытов по укоренению зеленых черенков вишни были взяты формы, относящиеся к трудноукореняемым. По данным селекционеров ГНУ НИИСС Россельхозакадемии, укореняемость таких форм и сортов в благоприятные годы колеблется от 13 до 42%. Лето 2010 г. выдалось холодным. Средняя дневная температура июля составила 17,4°C, августа - 17,0°C, сентября - 10,6°C. Наиболее благоприятная дневная температура в пленочной теплице для укоренения зеленых черенков вишни согласно рекомендациям [11] должна быть от 24 до 28°C. В наших опытах температура днем не превышала 21°C. Неблагоприятная температура отразилась на степени укоренения черенков вишни. В кон-

троле не было получено ни одного укорененного черенка, хотя процент каллусообразования у отдельных форм был достаточно высок. На момент выкопки черенков в контроле все черенки высохли. Однако в опыте с УЗ количество оставшихся живыми черенков колебалось от 54 до 100 %, выше были и показатели

каллусообразования. В каллусе наблюдали зачатки корней. Хотя в целом процент укорененных черенков не был высоким, положительное влияние УЗ на ризогенез (включая каллусообразование) у зеленых черенков вишни при их укоренении прослеживалось совершенно явно (таблица 3, рисунки 5, 6, 7).

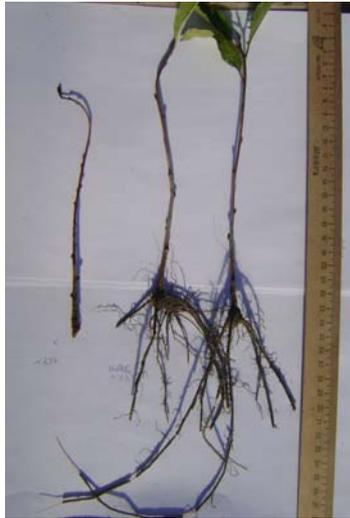


Рисунок 5. Черенки элитной формы № 256 (слева контроль; справа ИМК + УЗ).



Рисунок 6. Черенки ВЧ-48 (слева контроль; справа ИМК + УЗ).



Рисунок 7. Черенки ВЧ-50 (слева контроль; справа ИМК + УЗ).

## ВЫВОДЫ

1 Обработка ультразвуком удельной мощностью  $75 \text{ Вт/дм}^3$  оказала благоприятное действие на рост и развитие корней и надземной части розеток земляники сорта Сельва.

2 Воздействие ультразвука на основания розеток земляники вызывает достоверное снижение митотической активности в апикальных меристемах корней первого порядка.

3 Даже при неблагоприятных погодных условиях отмечено положительное влияние ультразвукового облучения на ризогенез (включая каллусообразование) и жизнеспособность зеленых черенков вишни.

## СПИСОК

1. Байер В. Ультразвук в биологии и медицине: пер. с нем. – Л., 1958. – 308 с.
2. Бергман Л. Ультразвук и его применение в науке и технике. – М.: Наука, 1957. – 576 с.
3. Брагинская Ф.И. Действие ультразвуковых волн на полифосфаты и нуклеиновые кислоты и их комплексы: дис. канд. хим. наук. – М., 1965. – 193 с.

4. Верещагин А.Л., Хмелева А.Н. Влияние ультразвукового облучения и регуляторов роста на ризогенную активность растительных объектов. – Бийск: Изд-во АГТУ им. И.И. Ползунова, 2010. – 72 с.
5. Гауровец Ф. Химия и функция белков. – М.: Мир, 1965. – 530 с.
6. Маргулис М.А. Звукохимические реакции и сонолюминисценция. – М.: Химия, 1986. – 272 с.
7. Папихин Р.В. Муратова С.А. // Садоводство и виноградарство. – 2009. № 3. – С.18-21.
8. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений – М.: Агрохимиздат, 1988. – 271 с.
9. Рейх Е., Гольдберг И. Нуклеиновые кислоты / под ред. А.А. Баева. – М.: Мир, 1966. – 301 с.
10. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика – Минск, 1973. – 319 с.
11. Технология выращивания посадочного материала вишни в Сибири: рекомендации / ВАСХНИЛ, Сиб. отд-ние; НИИСС им. М.А. Лисавенко. – Новосибирск, 1989. – 72 с.
12. Цитологические исследования плодовых и ягодных культур / Методические рекомендации. Под ред. Г.А. Курсакова. – Мичуринск: ЦГЛ, 1976. – 104 с.