

УДК 575

**ВЛИЯНИЕ ДИАТОМИТА НА ВСХОЖЕСТЬ И ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН  
АРАБИДОПСИСА *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ  
СРЕДЫ**

<sup>1</sup>Наекова С., <sup>2</sup>Шалахметова Г.А., <sup>1</sup>Аубакирова К.М., <sup>1</sup>Кулатаева М.С.,  
<sup>1</sup>Аликулов З., <sup>1</sup>Сатканов М.Ж.  
[satkanov.mereke@gmail.com](mailto:satkanov.mereke@gmail.com)

1 – Евразийский Национальный университет им. Л.Н.Гумилева, г. Нур-Султан,  
2 – Казахский Национальный университет им. Аль-Фараби,

**Аннотация.** Целью данной работы было изучение влияния природного удобрения – диатомита на прорастание семян и рост проростков арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) в засоленной среде. Для улучшения прорастания семена этого растения подвергались

предпосевному праймингу в супернатантах, полученных из суспензии диатомита. Установлено, что после предпосевного прайминга в супернатантах и при выращивании в присутствии 1%-ного диатомита в среде роста умеренное засоление (100 мМ NaCl) почти не повлияло на процесс прорастания семян арабидопсиса и рост его проростков.

**Abstract.** This work aimed to study the effect of natural fertilizer – diatomite on seed germination and growth of arabidopsis *Arabidopsis thaliana* (L.) seedlings in a saline environment. To improve germination, the seeds of this plant were subjected to pre-sowing priming in supernatants obtained from a suspension of diatomite. It was found that after pre-sowing priming in supernatants and when grown in the presence of 1% diatomite in the growth medium, moderate salinization (100 mm NaCl) had almost no effect on the germination of arabidopsis seeds and the growth of its seedlings.

**Ключевые слова:** диатомит, прайминг семян, арабидопсис, прорастание, засоление.

**Keywords:** diatomite, seed priming, Arabidopsis, germination, salinity

### Введение

Основными факторами, вызывающих деградацию почвы, а также потери ее плодородия являются – засоление и засуха. В глобальном масштабе 1,5 миллиард гектаров находится под действием засоления, и от одной трети до половины поливных территорий потеряли плодородия из-за сильного засоления. Тип засоления почвы определяется по содержанию таких анионов таких как хлориды ( $\text{Cl}^-$ ), сульфаты ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) и карбонаты ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). Все эти соли хорошо растворимы в воде, так что во влажном климате обычно вымываются из почвы атмосферными осадками и сохраняются в нем в ничтожных количествах, а в засушливых территориях концентрация соли в почве остается неизменной.

В сельскохозяйственном производстве основным методом борьбы с засолением является мелиорация засоленных почв, создание надежного дренажа почв после сбора урожая. На солонцах (почвы, содержащие много ионов хлорида и натрия) мелиорацию осуществляет с помощью гипсования, которое приводит к вытеснению этих ионов из замещения его кальцием [1]. Вторым неблагоприятным фактором, распространенным в Казахстане, является засуха. Она стало обычным явлением для многих регионов Казахстана. Засуха – это длительный бездождливый период, сопровождаемый снижением относительной влажности воздуха, влажности почвы и повышением температуры [2]. Под влиянием недостатка воды в растительном организме происходят определенные физиологические изменения, повышающие его устойчивость к данному фактору. Этот процесс состоит из нескольких этапов. Начальным этом является осморегуляция – накопление осмотически действующих веществ, таких как ионы, в первую очередь  $\text{K}^+$ , и органические вещества аминокислоты, такие как пролин, глицинбетаин. Благодаря этому вода удерживается в клетке и предохраняется от высыхания [3]. Поэтому в настоящее время повышение устойчивости растений к засухе является актуальной проблемой в сельском хозяйстве.

На сегодняшний день все чаще говорят о применении в сельском хозяйстве новых, нетрадиционных удобрений для повышения урожайности культурных растений. В этом аспекте использование природного удобрения диатомит представляет определенный интерес [4-6]. Проведенные за последние десятилетия исследования, посвященные роли кремния и его соединений в почвенных процессах, резко расширили круг возможных областей применения природных кремнеземов в этой отрасли. Минералы кремния рассматривают как источник растворимого кремнезема, который играет важную роль в формировании плодородия почв, повышении продуктивности растений и их устойчивости к болезням и вредителям [7].

Основной функцией соединений кремния у растений является повышение их устойчивости к неблагоприятным условиям, что проявляется в утолщении тканей эпидермиса (механическая защита), связывании токсичных соединений (химическая защита) и увеличении устойчивости к стрессовым воздействиям (биохимическая защита). Также установлено, что растворимые соединения кремния ускоряют рост, развитие и повышают

урожайность многих видов растений [8]. Разнообразие растений, демонстрирующих положительный отклик на введение кремниевых соединений, доказывает, что все эти механизмы характерны в том числе и для несиликофилов (силикофилы – виды, которые накапливают 1% или более процентов кремния на общую сухую массу). Применение монокремниевой кислоты (0; 0,04; 0,08; 0,20; 0,40 или 0,80 г/л) к выращенному гидропонным способом *Bradyrhizobium cowpea* вызвало повышенное накопление кремния в корнях и побегах, что вызвало значительное ускорение роста корней, но не рост побегов [9]. Также было продемонстрировано, что соединения кремния могут быть использованы для повышения устойчивости растений к различным внешним стресс-факторам [10]. Основная защитная роль принадлежит диоксиду кремния, который накапливается в тканях эпидермиса [11] и волосках на листовых пластинах [12]. Предполагается, что ортокремниевая и олигокремниевые кислоты в клеточной стенке образуют эфиры с белками и полисахаридами (пектин). Соединения кремния связываются с белками либо через свободные ОН-группы аминокислот (серин, тирозин и треонин), либо через N-Si связи с аминогруппами N-терминальных аминокислот [13-15]. Защитные эффекты кремния от повреждения вредителями также могут быть связаны с механическим барьером, обеспечиваемым осаждением диоксида кремния в клеточной стенке и его накоплением под кутикулой, что затрудняет проникновение патогенов в ткани растений [16].

#### Материалы и методы исследования

В качестве природного удобрения использовали диатомит Мугальжарского месторождения Актюбинской области Республики Казахстана. В опытах были использованы семена модельного объекта *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (арабидопсис) природного экотипа *Wassilevskija* (WS-0) и растения. Для предпосевного прайминга семян использованы супернатанты, полученные центрифугированием суспензии различных концентрации диатомита (5 г, 10 г, 15 г, 20 г/100 мл H<sub>2</sub>O). С целью обеззараживания полученные супернатанты были автоклавированы. Моделирование солевых условий проводилось с раствором 100 мМ NaCl (среднее засоление) [5, 17].

Прайминг семян проводили в дистиллированной воде и в различных супернатантах суспензии диатомита. Метод прайминга представляет собой насыщения семян вышеуказанными растворами в течение 12 часов при температуре 5-7°C в темноте. Затем семена высушивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Эксперименты по выращиванию семян проводились в лабораторных условиях при средней дневной/ночной температуре 20/18°C, относительной влажности воздуха от 50 до 55% и освещенности окружающей среды. Образцы были собраны через 7 дней. Статистическую обработку групп данных проводили в приложении Excel. Значимость различий оценивали по p-value (p≤0.05).

*Культивирование растений арабидопсиса в стерильных условиях.* Для стандартизации условий эксперимента использовались растения, выращенные в одинаковых стерильных условиях. Семена обрабатывались 15 мин раствором коммерческого детергента (20 % Domestos) и промывались в стерильной деионизованной воде не менее 7 раз, чтобы удалить остатки детергента. Семена высаживались на поверхность твердой (агаризованной) питательной среды в линию в верхней части чашки Петри, приблизительно 1,5 см от края. Среда выращивания содержала стандартную смесь солей Мурасиге и Скуга с микроэлементами, произведенную компанией Duchefa (Харлем, Нидерланды), имеющую следующий состав: 2,99 ммоль/л CaCl<sub>2</sub>, 1,25 ммоль/л KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 18,79 ммоль/л KNO<sub>3</sub>, 1,5 ммоль/л MgSO<sub>4</sub>, 20,61 ммоль/л NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0,11 мкмоль/л CoCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O, 0,1 мкмоль/л CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O, 0,1 ммоль/л FeNaЭДТА, 0,1 ммоль/л H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 5 мкмоль/л KI, 0,1 ммоль/л MnSO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O, 1,03 ммоль/л Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>•2H<sub>2</sub>O и 29,91 мкмоль/л ZnSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O. В данную среду также добавлялись 1% сахарозы и 0,35 % Phytigel (Sigma), pH титровался до уровня 6,0 при помощи КОН. Горячая среда с агаром непосредственно после автоклавирования разливалась в чашки Петри (по 25 мл). Стерильные семена высаживались в ламинар-боксе на свежую затвердевшую (охлажденную до комнатной температуры) среду. Чашки с высаженными семенами изолировались и выдерживались 2 сут при 4°C в темноте стратификация, что

стимулировало выход семян из состояния покоя. Затем чашки помещались в стерильную ростовую камеру с контролируемыми условиями освещения и температурой 22°C, где культивировались в течение 10 сут.

Для определения сочетанного действия диатомита на рост корня арабидопсиса дикого типа *WS-0* на фоне засоления (100 ммоль/л NaCl) использовались различные концентрации диатомита и его супернатанта: 5–20 %. Тестируемые агенты вводились в питательную среду непосредственно перед автоклавированием. Стерильные семена высаживались на «стресс-вызывающую» среду вышеописанным способом. Длина основного корня для каждой серии (50 проростков) измерялась на 10 сут. Определялись средние значение длины корня по отношению к длине корней в контроле (выращенных на полной среде Мурасиге и Скуга без добавления диатомита и NaCl). Солевой стресс моделировали с помощью NaCl в концентрации 200 ммоль. Концентрация диатомита в среде прорастания и роста семян арабидопсиса варьировали в пределах от 1% до минимального 0,04% [1].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы MS Excel 2007 (Microsoft, USA). Достоверность определена с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) [18-19]. Достоверность различий рассчитывалась при помощи ANOVA теста ( $p \leq 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

Изучение влияния предпосевого прайминга семян в оптимальных концентрациях диатомита на всхожесть семян в условиях засоления, рост и развитие проростков и на их дальнейшую устойчивость к засолению. После недели выращивания арабидопсиса на фильтрованной бумаге в чашках Петри в котором качестве контроля были взяты необработанные семена, обработанные праймингом в дистиллированной воде и в супернатантах суспензии различных концентрации диатомита (0.5г, 1г, 2.5г, 5.0г, 7.5г, 10.0г/100 мл H<sub>2</sub>O) были определены их проценты прорастания. Полученные результаты показали, что предпосевого прайминг в супернатантах суспензии диатомита с концентрациями до 10 г/100 мл улучшал прорастания семян арабидопсиса. Даже прайминг семян в дистиллированной воде повышал их всхожесть по сравнению с контрольными сухими семенами, хотя всхожесть семян этого варианты была значительно ниже обработанных праймингом (таблица 1).

Таблица 1

Всхожесть (в %) семян арабидопсиса после предпосевого прайминга в супернатантах, полученных из суспензии с различными концентрациями диатомита

Супернататы, полученных из суспензии с различными концентрациями диатомита (г/100 мл H <sub>2</sub> O)							
Сухие семена	Прайминг в воде	0.5 г	1.0 г	2.5 г	5.0 г	7.5 г	10.0 г
85	90	98	99	99	97	95	93

Таким образом, было установлено, что все концентрации диатомита (особенно до 5.0 г/100 мл) благоприятно повлияли на всхожесть семян. Как видно на рисунке 1, влияния диатомита снижается с понижением его концентрации в среде роста до 0,04%. Поэтому, в дальнейших экспериментах в качестве оптимальной концентрацией диатомита выбрали его 1%-ную суспензию.



Контроль

1%ДТМ

0,2%ДТМ

0,04%ДТМ

Рисунок 1. Влияние различных концентрации диатомита на рост и развитие проростков арабидопсиса (контроль – прайминг семян в дистиллированной воде)

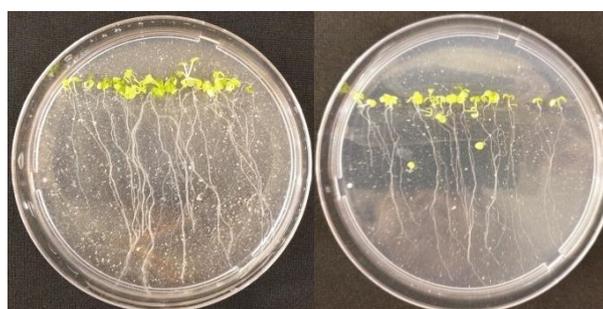
После прайминга в супернатанте 1%-ой суспензии диатомита семена арабидопсиса выращивали в среде на фильтровальной бумаге (в чашках Петри), содержащей 100 мМ NaCl. В ходе проведенных экспериментов были получены данные о сочетанном влиянии засоления и диатомита на рост проростков арабидопсиса, которые представлены на рисунке 2. На 10 сутки определялись средние значения длины корней проростков арабидопсиса по отношению к длине корней в контроле (выращенных на полной среде Мурасиге и Скуга). Было показано, что добавление в питательную среду 100 ммоль/л NaCl вызывало ингибирование роста основного корня на 50 %. Дополнительное введение диатомита способствовало уменьшению негативного влияния соли, при этом наиболее эффективной концентрацией диатомита являлась 1%. При данной обработке рост корней арабидопсиса не отличался от контрольной группы растений. Супернатант, полученный из 1%-ой суспензии диатомита увеличивал прирост длины основного корня на 33 % по сравнению с 100 мМ NaCl.



Контроль

NaCl (100мМ)

1%ДТМ+100мМ NaCl



0.2%ДТМ+100мМ NaCl    0,04%ДТМ+100мМ NaCl

Рисунок 2. Выращивание семян арабидопсиса в твердой среде в присутствии различного содержания диатомита (ДТМ)

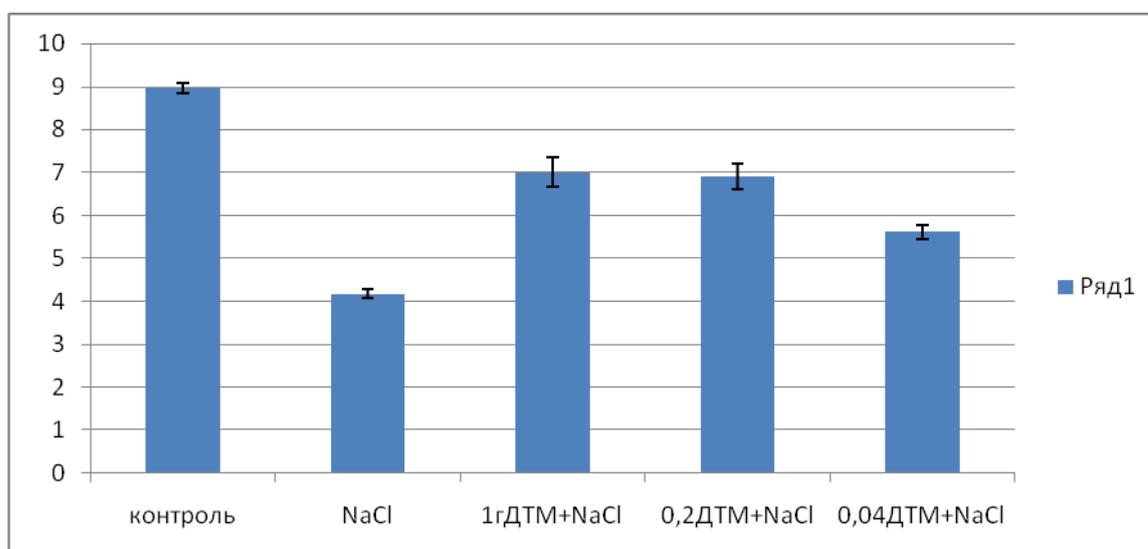


Рисунок 2а. Влияние различных концентрации диатомита на рост и развитие *Arabidopsis thaliana* (L.) во время солевого стресса

Таким образом, среднее засоление (100 мМ NaCl) среды сильно подавляет всхожесть и прорастание сухих семян арабидопсиса и рост их проростков. Хотя предпосевной прайминг семян арабидопсиса в дистиллированной воде значительно повышает их всхожесть, не предотвратил ингибирующее действие соли на всхожесть и рост проростков.

### Литература

- 1 Shabala S. Plant physiology. Plants – Effect of stress on adaptation / S. Shabala. – 2nd ed. – Boston, MA: CABI, 2017. – 376 p.
- 2 Sengar R.S. Climate change effect on crop productivity / R.S. Sengar. – CRC Press, 2014. – 538 p.
- 3 Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance / R. Munns, M. Tester // Annual Review in Plant Biology. – 2002. – Vol. 59. – P. 651–681.
- 4 Наекова, С. К., М. Сатканов, А. У. Исаева, К. М. Аубакирова, М. Т. Мырзабаева, З. А. Аликулов, Ж. Ш. Ургалиев, and Ш. Е. Арыстанова. "Сравнительная характеристика различных образцов Мугалжарского диатомита." (2018).
- 5 Наекова, С. К., Сатканов, М., Аубакирова, К. М., Арыстанова, Ш. Е., Сегизбаева, Г. Ж., & Аликулов, З. А. (2018). Влияние предпосевного прайминга семян в присутствии различных концентраций диатомита на рост и развитие проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.). In Биоэкологическое краеведение: мировые, российские и региональные проблемы (pp. 55-60).
- 6 Сатканов, М.Ж., 2011. Способы повышения солеустойчивости растений с помощью природного удобрения-диатомита.
- 7 Козлов А.В. Влияние диатомита на биопродуктивность зерновых культур и численность микробного сообщества почвы / А.В. Козлов // Агрехимический вестник. – 2012. – Т. 5. – С. 39–41.
- 8 Матыченков И.В. и Пахненко Е.П. Изменение содержания подвижных фосфатов почвы при внесении активных форм кремния // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – Т. 12. – С. 24–29.
- 9 Матыченков И.В. и Пахненко Е.П. Изменение содержания подвижных фосфатов почвы при внесении активных форм кремния // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – Т. 12. – С. 24–29.
- 10 Datnoff L.E. Influence of silicon fertilizer grades on blast and brown spot development and on rice yields // Plants Disease. – 1992. – V. 76, № 10. – P. 1011–1013.

- 11 Nakashima K. and Ito Y. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stress in *Arabidopsis* and grasses // *Plant Physiology*. – 2009. – Vol. 149. – P. 88–95.
- 12 Das K. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants // *Frontiers in Environmental Science*. – 2014. – Vol. 2. – P. 1–13.
- 13 Lux A. Endodermal silicification in developing seminal roots of lowland and upland cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) // *Canadian Journal of Botany*. – 1999. – Vol. 77. – P. 955–960.
- 14 Hodson M.J. and Sangster A.G. Silica deposition in the influence bracts of wheat (*Triticum aestivum*) // *Canadian Journal of Botany*. – 1988. – Vol. 66, № 5. – P. 829–838.
- 15 Колесников М.П. Формы кремния в растениях // *Успехи биологической химии*. – 2001. – Т. 41. – С. 301–332.
- 16 Воронков М.Г. Кремний и жизнь. Биохимия, токсикология и фармакология соединений кремния. Изд. 2-ое. – Рига: Зинатне, 1978. – 558 с.
- 17 Hasegava P.M., Bressan R.A., Zhu J-K., Bohnert H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Physiol. Molec. Biol.* 51: 463-499.
- 18 Демидчик В.В. 2015. [Активные формы кислорода как регуляторы роста и стрессовых ответов в корне высших растений](#) в сборнике: [регуляция роста, развития и продуктивности растений](#)//Материалы VIII международной научной конференции. Минск, -С 32.
- 19 Кадырбаев, М. К., Головацкая, И. Ф., & Сатканов, М. Ж. (2021). Особенности морфогенеза и метаболизма регенерантов *in vitro*, полученных из разных фрагментов побега картофеля.