

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ЗАДЕРЖКИ СТАРЕНИЯ ЛЕПЕСТКОВ В СВЯЗИ С ЖИЗНЬЮ В ВАЗЕ СРЕЗАННЫХ ЦВЕТОВ

Панфилова О. Ф., Пильщикова Н. В.

*Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Российский государственный аграрный университет-МСХА им. К. А. Тимирязева»,
г. Москва, Россия, e-mail: sad200805@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение старения лепестков гвоздики садовой и альстромерии. Изучалось влияние тиосульфата серебра (STS), метилциклопропена (1-MCP) и 5-сульфосалициловой кислоты (5-SSA) на время жизни в вазе срезанных цветов. С использованием ингибитора синтеза этилена STS подтверждены существенные сортовые различия гвоздики в чувствительности к этилену. У альстромерии STS задерживал старение лепестков только на 1–2 дня, ингибитор рецепторов этилена 1-MCP – на 4 дня. Обсуждается участие этилена в регуляции финальных процессов старения лепестков альстромерии. Триггером могут выступать пороговые эффекты процессов, связанные с мобилизацией питательных веществ. Видимым признакам старения лепестков предшествуют изменения активности антиоксидантных систем клетки и нарушение стабильности мембран. 5-SSA увеличивает время жизни альстромерии в вазе на 5–6 дней за счёт усиления антиоксидантной активности.

Ключевые слова: антиоксидантные системы, жизнь в вазе, индекс стабильности мембран, 1-метилциклопропен, старение лепестков, 5-сульфосалициловая кислота, тиосульфат серебра, цветочная срезка, этилен.

Завершающей стадией жизненного цикла листьев и лепестков является увядание. Этот процесс отличается сложной организацией и чёткой скоординированностью изменений клеточных ультраструктуры и метаболизма. Его начало строго контролируется сигнальными каскадами, которые инициируют изменения в экспрессии генов и синтезе белков *de novo*. В основной массе это гидролитические ферменты. Отличительной особенностью увядания, которая позволяет рассматривать этот процесс как один из типов запрограммированной гибели клеток (ЗКГ), является мобилизация углерода и азота в гибнущих клетках и их перенос к растущим органам, например, семенам, плодам. Увядание, прежде всего, контролируется возрастным фактором при условии оптимальных условий, и время его индукции видоспецифично. Изучение механизмов реализации ЗКГ при увядании представляет интерес с

точки зрения взаимодействия различных программ клеточной гибели, которыми, очевидно, располагают растения. Молекулярная биология позволила установить характерные перестройки в функционировании генов при старении [1]. Однако изучение генной регуляции недостаточно для воссоздания картины старения, для этого необходимы знания изменений в физиологических процессах и их структурной организации.

Лепестки являются перспективной модельной системой изучения регуляции процессов старения, так как для данного вида можно точно предсказать, когда откроется бутон и как быстро будет стареть цветок. Цветки имеют видоспецифичную ограниченную продолжительность жизни с необратимой программой старения, которая в значительной степени независима от внешних факторов в отличие от обратимого старения листьев, зависящего от внешних факторов. Опыление является основным триггером, регулирующим гибель околоцветника. У многих видов растений его влияние опосредовано этиленом, который первоначально образуется в гинецее и вызывает автокаталитический синтез этилена в лепестках, приводящий к их завяданию.

Однако существует большое количество видов, у которых этилен не выступает в роли триггера старения. Учитывая, что не удастся найти общий регулятор для этих видов и их большое таксонометрическое разнообразие, вполне вероятно, что существует несколько взаимосвязанных механизмов. Одним из триггеров может выступать распределение ресурсов. Старение является частью генетической программы развития, при которой активируется синтез многих ферментов, что обеспечивает синхронизацию старения с ремобилизацией питательных веществ. В связи с этим на заключительном этапе развитии органов растения необходимо чётко выделять регулируемый процесс старения, который требует живых клеток, и необратимую терминальную фазу запрограммированной клеточной гибели. Хотя эти два процесса могут идти одновременно в разных клетках одного органа.

В регуляции многих процессов развития, в том числе старения ключевую роль играют активные формы кислорода (АФК). Вместе с тем генерация АФК может быть причиной повреждения мембранных структур и преждевременной гибели клеток. До сих пор остается открытым вопрос, как складывается баланс между образованием АФК с его сигнальной ролью и функционированием антиоксидантных систем, представленных антиоксидантными ферментами и защитными веществами [2, 5].

В настоящей работе ставилась задача изучить физиологические особенности старения лепестков с разными способами регулирования этого процесса. Объектами исследования служили популярные

во флористике сорта и гибриды гвоздики садовой (*Dianthus caryophyllus* L.): 'Eskimo', 'Selima', 'Charon', 'North Wind', 'Grana', 'Tico Tico' и альстромерии (*Alstroemeria* L.) сортов 'Virginia', 'Cosmo', 'Tornado', 'Granada' и 'Nadya'.

В качестве ингибитора синтеза этилена использована пульсирующая обработка тиосульфатом серебра (4 mM AgNO₃ : 32 mM NaS₂O₃), ингибитора чувствительности к этилену – 1 мкл л⁻¹ 1-метилциклопропен (1-МСП), регулятора активных форм кислорода – 200 мкМ 5-сульфосалициловой кислоты (SSA) в вазовом растворе [6, 10].

Исследования проводили в осенне-зимние периоды 2016–2018 гг. на облиственных цветущих побегах в лаборатории с естественным рассеянным светом при температуре воздуха +18...+20 °С. Взятие проб осуществляли на стадиях полуроспуска, полного роспуска, начала и завершения старения цветков. Показатели водного обмена, состояния мембран, активность каталазы и пероксидазы лепестков определяли общепринятыми методами [3]. Индекс стабильности мембран определяли по выходу электролитов из тканей, помещённых в деионизированную воду. Декоративные качества цветов оценивали по 5-балльной шкале, учитывая стадию развития цветка, тургесцентность и окраску лепестков и листьев, наличие некротических пятен. Повторность в опытах – 5-кратная. Двухфакторный дисперсионный анализ данных об изменчивости количества дней сохранения декоративных качеств в срезке в зависимости от раствора и сорта растения проведен в Microsoft Excel.

Изучение влияния обработки побегов раствором тиосульфата серебра (STS) подтвердило значительное увеличение сохранения декоративных качеств цветов гвоздики у сортов 'Eskimo', 'Grana', 'Tico Tico'. Время жизни в вазе увеличивалось в 2–2,5 раза. Однако для сортов 'Everest', 'Selima' и 'Charon', как и в предыдущих опытах для сортов 'Charon' и 'North Wind' [6], обработка не дала значимого положительного эффекта. Это указывает на сортовые различия в реакции на этилен и, вероятно, на достижения селекции в выведении этилен нечувствительных сортов для увеличения их жизни в вазе. В литературе есть указания на использование селекционных линий, у которых длительная жизнь цветов связана либо с отсутствием производства этилена, либо с этилен нечувствительностью. И в том, и другом случае это связано с нарушением развития гинцея [2, 12].

Изучение действия ингибиторов этилена на сохранение декоративных качеств альстромерии согласуются с ранее полученными данными для других сортов [4, 6] и отсутствием эффекта экзогенной обработки этиленом [11]. Обработка STS только на 2–3 дня увеличивало время жизни в вазе изученных сортов. Более эффективным оказалось

воздействие 1-МСП, блокирующим рецепторы этилена. Сохранение декоративных качеств увеличилось на 6 дней. При этом во всех случаях увеличение продолжительности жизни происходило за счёт более медленного прохождения заключительных стадий развития цветка. Вероятно, для альстромерии, так же, как и для лилии [8], этилен не является основным триггером включения программы, но участвует в координации финальных процессов старения цветка. Одним из триггеров процесса старения может выступать пороговый эффект одного или нескольких постепенных биохимических процессов, связанных с протеолитической активностью и разрушением сложных липидов, обеспечивающих активную мобилизацию питательных веществ. Показано, что у альстромерии некоторые индикаторы ЗГК проявляются на ранних стадиях развития цветка. Они включают постепенное возрастание экспрессии цистеин протеазы, а также резкое снижение липоксигеназной активности и содержания липидов, начинающиеся на 1 и 2 стадиях развития цветка [15]. Проведённое нами определение параметров водного обмена листа, активности антиоксидантных ферментов и стабильности мембран показало, что ключевые события старения лепестков происходят на 4–5 стадиях. Активность пероксидазы по мере развития цветка постепенно возрастала и снижалась после полного раскрытия цветка. В варианте с STS и 1-МСП этого снижения не происходило. Активность каталазы постепенно снижалась от 2 до 6 стадий развития цветка, на 3 стадии была несколько выше в варианте с 1-МСП. Индекс стабильности мембран сохранялся на уровне 82 % на ранних стадиях развития цветка, как в контрольном, так и опытном варианте, на 5 стадии наблюдалось его падение до 42 % в контроле и 60 % в опытных вариантах. В это же время наблюдалось изменение окраски цветков.

Изучение действия 5-сульфосалициловой кислоты (SSA) на жизнь в вазе срезанных цветов альстромерии выявило значительное увеличение сохранения декоративных качеств. Под действием SSA снижалась скорость старения цветков и увеличивалось количество раскрытых бутонов по сравнению с контролем. Утрата декоративных качеств цветущих побегов в контроле наступала на 10 день жизни в вазе, в варианте с SSA – на 16 день. На растворе SSA поглощение воды цветущими побегами составляло 168 %, от контроля. До 4 стадии развития цветка индекс мембранной стабильности (IMS) сохранялся на уровне 82–85 % в опытном и контрольном вариантах, но впоследствии снижался и особенно резко в контроле. Так, на 5 стадии в опытном варианте IMS составлял 62 %, в контроле – 54 %, к 6-ой стадии в контроле и опыте происходило снижение до 41 %. В это же время наблюдалось изменение окраски цветков. Подобные результаты доложены для герберы, гладиолуса, лилейника [13]. Но, как уже было отмечено выше, на растворе SSA прохождение этапов старения было замедленно.

Двухфакторный дисперсионный анализ данных об изменчивости количества дней сохранения декоративных качеств в срезке показал, что доля влияния вазового раствора составляет 63 %, сорта и взаимодействия факторов соответственно 12 и 20 %.

Альстромерия относится к группе растений, у которой опадение лепестков происходит после потери тургора. При этом, чем дольше лепестки не опадают, тем больше возможность для реутилизации веществ. Ранее проведенное детальное изучение в динамике изменения сырой и сухой массы [7] показало, что относительные потери массы были сравнимы при старении листьев и лепестков. Это свидетельствует о том, что у альстромерии завядание лепестков связано с реутилизацией веществ. Однако старение лепестков не является следствием постепенного использования ресурсов и истощения клеток.

Изучение активности антиоксидантных ферментов показало, что ключевые события старения лепестков происходят на 4–5 стадиях. Активность пероксидазы по мере развития цветка постепенно возрастала и снижалась после полного раскрытия цветка. При этом, если на 2 этапе развития цветка активность пероксидазы составляла 142 % от контроля, то на 4-ом – 170 %. К 5-му этапу наблюдалось более резкое снижение активности пероксидазы в контроле. Активность каталазы постепенно снижалась от 2 до 6 стадий развития цветка с превышением на 15–17 % в варианте с SSA. Можно считать, что дестабилизация мембран, сопровождающая старение, является следствием перекисного окисления липидов в условиях снижения антиоксидантной активности клетки.

Заключение. В связи с особенностями цветочной продукции послеуборочная физиология и поиск путей продления жизни привлекает всё большее внимание исследователей [9]. В онтогенезе органа старость является заключительным эндогенно регулируемым этапом. Лепестки цветов являются удобной модельной системой изучения происходящих необратимых процессов. Триггерная роль этилена в запуске программы старения оказалась очень ограниченной. Как показали проведенные исследования, даже у классического этилен чувствительного объекта – гвоздики садовой существует ряд нечувствительных к этилену гибридов. Чувствительность к этилену вероятно следует считать дополнительным уровнем управления темпами старения лепестков на заключительном этапе для повышения эффективности использования органических веществ на формирование репродуктивных органов.

Наблюдаемое при полном роспуске цветка уменьшение сырой и сухой массы и усиление дыхания [13] свидетельствуют о высокой энергозависимости инициации старения. Существенную роль в этом играют активные формы кислорода (АФК) и антиоксидантные системы. Прогрессирующая дестабилизация мембран, проявляющаяся в

резком снижении индекса стабильности, когда нет ещё видимых признаков старения цветка, свидетельствует о том, что реализация программы старения начинается раньше. Одной из причин нарушения целостности мембран является установленное рядом авторов снижение содержания мембранного белка после полного открытия цветка, которое связано с усилением деградиционных процессов и уменьшением синтеза *de novo* [13, 14]. Другая не менее важная причина – перекисное окисление липидов, к которому самое непосредственное отношение имеют генерация АФК и снижение антиоксидантной активности. Существенная задержка старения лепестков под действием 5-сульфосалициловой кислоты может быть следствием как показанного в работе поддержания в более активном состоянии антиоксидантных ферментов, так и в возможном связывании активных форм кислорода.

В работе показано преимущество 5-сульфосалициловой кислоты перед ингибиторами этилена – STS и 1-MCP в продлении жизни в вазе альстромерии. Подобная эффективность 5-сульфосалициловой кислоты установлена для срезки гладиолусов [13]. Показано, что опрыскивание роз сорта ‘Черная магия’ за 2 недели до уборки и дальнейшее размещение срезки на растворе салициловой кислотой значительно увеличивает сохранение декоративных качеств [10]. Таким образом, 5-сульфосалициловая кислота может занять достойное место в ряду препаратов для замедления старения в срезке, особенно у нечувствительных к этилену цветов.

Библиографический список

1. Кошкин Е.И., Адрианов В.Н., Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Физиологические основы качества продукции цветоводства. – М.: РГАУ-МСХА, 2012. – 295 с. – ISBN 978-5-9675-0654-3.
2. Кошкин Е.И., Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Качество продукции цветоводства: проблемы и решения. – М.: РГАУ-МСХА, 2012. – 266 с. – ISBN:978-5-9675-0753-3.
3. Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В., Фаттахова Н.К. Практикум по физиологии растений. – М.: РГАУ-МСХА, 2010. – 110 с. – ISBN 978-5-9675-0382-5.
4. Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Жизнь в вазе срезанных цветов гвоздики садовой и альстромерии // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2014. – Вып. 51. – С. 248–255. – ISSN 2225-3068.
5. Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Апоптоз и жизнь в вазе срезанных цветов // IX Экономика и управление народным хозяйством. Состояние и перспективы развития современной науки: социально-экономические и естественнонаучные исследования: мат. международной науч.-практич. конф. – Пенза: ПДЗ, 2016. – С. 82–85. – ISBN 978-5-8356-1098-3.
6. Пильщикова Н.В., Панфилова О.Ф. Чувствительность к этилену и регуляция старения лепестков гвоздики и альстромерии // Доклады ТСХА. – 2016. – № 288–1. – С. 68–72. – ISBN 978-5-9675-1468-5.
7. Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Старение органов растения как реализация генетической программы развития // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2017. – Вып. 61. – С. 174–180. – ISSN 2225-3068.

8. Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Развитие цветка и сохранение декоративных качеств цветов лилии (*Lilium L.*) азиатских гибридов // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2018. – Вып. 65. – С. 74-80. – doi: 10.31360/2225-3068-2018-65-74-80.
9. Рындин А.В., Лях В.М. Хранение и продление жизни срезанных цветов роз и других цветочных культур (Обзор) // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2016. – Вып. 58. – С. 145-161. – ISSN 2225-3068.
10. Alaei M., Babalar M., Naderi R., Kafi M. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase-life of rose cut flowers // Post-harvest Biology and Technology. – 2011. – Vol. 61-1. – P. 91-94.
11. Doorn W.G., Woltering E.J. Physiology and molecular biology of petal senescence // Journal of Experimental Botany. – 2008. – Vol. 59. – No 3. – P. 435-480.
12. Ebrahimzadeh, A. S., Jimenez-Becker A., Manzano-Medina S., Jamilena- Quesada M., Lao-Arenas M. T. Evaluation of ethylene production by ten Mediterranean carnation cultivars and their response to ethylene exposure // Spanish Journal of Agricultural Research. – 2011. – Vol. 9. – № 2. – P. 524-530.
13. Ezhilmathi K., Singh V.P., Arora A., Sairam R.K. Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of Gladiolus cut flowers // Plant Growth Regul. – 2007. – Vol. 51. – P. 99-108. – doi: 10.1007/s10725-006-9142-2.
14. Rogers Hilary Programmed cell death in floral organs: how and why do flowers die? // Annals of Botany. – 2006. – Vol. 97. – P. 309-315.
15. Wagstaff C., Malcolm P., Rafid A., Leverentz M., Griffiths G., Tomas B., Stead A., Rogers H. Programmed cell death (PCD) processes begin extremely early in Alstroemeria petal senescence // New Phytologist. – 2003. – Vol. 160. – P. 49-59.

PHYSIOLOGICAL APPROACHES OF DELAY IN FLOWER SENESCENCE IN CONNECTION WITH THE VASE-LIFE OF CUT FLOWERS

Panfilova O. F., Pilschikova N. V.

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazev”,
c. Moscow, Russia, e-mail: sad200805@mail.ru*

A comparative study of carnation and the Peruvian lily petals senescence was carried out. The influence of silver thiosulfate (STS), 1-methylcyclopropene (1-MCP) and 5-sulfosalicylic acid (5-SSA) on the vase-life of cut flowers was studied. Significant varietal differences in sensitivity of carnation to ethylene have been confirmed, applying ethylene synthesis inhibitor STS. In the Peruvian lily STS delayed senescence of petals only by 1–2 days, while inhibitor of ethylene receptors 1-MCP – by 4 days. The participation of ethylene in the regulation of the final aging processes of the Peruvian lily petals is discussed. The trigger can be the threshold effects of processes associated with mobilization of nutrients. Visible signs of petal senescence are preceded by changes in the activity of antioxidant systems of the cell and a violation of membrane stability. 5-SSA increases vase-life of the Peruvian lily by 5–6 days due to the increased antioxidant activity.

Key words: antioxidant systems, vase-life, index of membrane stability, 1-methylcyclopropene, petals senescence, 5-sulfosalicylic acid, silver thiosulfate, cut flower, ethylene.