

УДК 581.142

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМАХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С РАСТИТЕЛЬНЫМИ ОБЪЕКТАМИ

Ж.Э. Мазец, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей биологии и ботаники БГПУ;

К.Я. Кайзинович, магистрант кафедры общей биологии и ботаники БГПУ;

А.Г. Шутова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биохимии и биотехнологии ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»;

С.Н. Шиш, аспирант отдела биохимии и биотехнологии ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»;

Н.В. Пушкина сотрудник лаборатории радиофизических исследований НИИ ЯП БГУ.

Электромагнитные поля (ЭМП) составляют неотъемлемую часть факторов, при воздействии которых формировалась живая природа. Кроме того, электрические, электрохимические, электробиологические процессы являются необходимой частью процессов функционирования живых организмов. Поэтому исследование реакций биообъектов на внешние электрические сигналы началось практически одновременно с созданием человеком таких сигналов [1]. На сегодняшний день имеется большое количество экспериментальных работ по исследованию влияния когерентного электромагнитного излучения на биологические системы от макромолекул до живого организма в целом [2, 3].

Биологические эффекты электромагнитного излучения являются фундаментальной научной проблемой, носящей отчетливо практико-ориентированный характер. Вероятно, нет ни одного внешнего фактора,

который имел бы такое мощное воздействие на живые организмы как электромагнитное излучение. Миллиметровые волны (КВЧ-излучение) начали осваиваться в 1965–1966 гг., когда российские ученые под руководством академика Н.Д.Девяткова и профессора М.В. Голанта разработали генераторы, продуцирующие электромагнитные волны. С этого времени эти волны начали использоваться в медицине, а затем в биологии. Это были низкоинтенсивные нетепловые волны, верхний предел которых не превышал удельной мощности 10 мВ/см^2 . Поэтому по количеству адсорбированной энергии этот диапазон отнесли к слабому или даже сверхслабому воздействию. Миллиметровые волны имеют несколько важных черт: сильная адсорбция молекулами воды, резонансный эффект, способность образовывать конвективные смеси облученной жидкости. В то же время биологические эффекты ММ-волн носят кумулятивный характер [4]. Эффекты, вызываемые ММ волнами, как правило, частотно-зависимы. Частоты, которые вызывают максимальный эффект, называются «резонансными». Причины их влияния не всегда объяснимы. Вероятнее всего, имеются тонкие механизмы их влияния на отдельные стороны клеточного метаболизма. Биологические эффекты могут наблюдаться только на резонансных частотах и исчезают при возрастании их до 100–200 МГц. Эффекты, вызванные действием ММ-волн во многих случаях, имеют кумулятивную природу, которая, вероятно, предполагает, что их проявление включает не только быстрые, но и относительно медленно протекающие биохимические процессы [4].

Доказано, что КВЧ-излучение миллиметрового диапазона существенно влияет на различные физиологические процессы всего живого, причем активизация или ингибирование данных процессов зависят от длины волны, ее частоты, мощности облучения и времени обработки. Эффект зависит от величины стрессовой реакции, вызывая неспецифические ответные реакции организма [5].

Результаты, полученные при исследовании эффектов электромагнитного излучения (ЭМИ) на семена и проростки, показали, что совершенно невозможно сформулировать четкие выводы об их влиянии [5]. В связи с этим актуальным представляется исследование по выявлению влияния ЭМИ на первичные процессы прорастания семян сельскохозяйственных растений, обусловленные сдвигами в процессах проницаемости покровов и мембран, изменение активности гидролитических и антиоксидантных ферментов. Эти исследования, вероятно, помогут приоткрыть завесу в понимании механизмов взаимодействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения с растительными объектами на ранних этапах онтогенеза.

Поэтому целью наших исследований было оценить влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на интенсивность процессов набухания и проницаемость мембран, активность гидролитических и антиоксидантных ферментов растений *Lupinus angustifolius* L. на ранних этапах онтогенеза.

Данная цель определила задачи исследования:

- оценить влияние ЭМИ на интенсивность процесса набухания и выход электролитов из набухающих семян *Lupinus angustifolius* L.;
- определить влияние ЭМИ на активность амилазы в проростках *Lupinus angustifolius* L. на ранних этапах развития;
- изучить влияние ЭМИ на активность каталазы в растениях *Lupinus angustifolius* L. на ранних этапах развития.

Обработка семян *Lupinus angustifolius* L. производилась в НИИ ядерных проблем БГУ в трех режимах: Режим 1 (частота обработки 54–78 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64–66 ГГц, время обработки 12 минут); Режим 3 (частота обработки 64–66 ГГц, время обработки 8 минут). Исследования проводились на базе агробиостанции «Зеленое» БГПУ и ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» в условиях лабораторных опытов.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования выбраны сорта «Митан» и «Першацвет» люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) белорусской селекции.

Определение проницаемости мембран в семенах проводили следующим образом. Семена в количестве 25 штук помещали в 50 мл дистиллированной воды на 25 ч при 25⁰С, затем воду сливали и измеряли интенсивность флуоресценции вышедших веществ в ультрафиолетовой части спектра (длина волны 322 нм) на спектрофотометре Agilent 8453 (США) [6, 7]. Повторность опыта 3–х кратная.

Определение активности амилазы проводили по модифицированному нами методу на основе методов Третьякова Н.Н. и Ермакова А.И. [8,9]. Активность амилазы рассчитывали по следующей формуле:

$$x = (D - D_1) \alpha V / DmV_1 ,$$

где D – оптическая плотность контрольного раствора; D₁ - оптическая плотность опытного раствора; α – количество внесенного крахмала; m - масса навески, г; V – объём исходной ферментной вытяжки, см³; V₁ – объём вытяжки, взятой для инкубирования, см³ [8, 9].

Определение каталазной активности в образцах проводили по модифицированному нами методу на основе методов Chance, Maehly и Aebi. Субстратом фермента служила Н₂О₂, приготовленная на 50мМ фосфатном буфере (рН 7.0) по прописи из каталога фирмы «Sigma» [10]. Оптическая плотность раствора Н₂О₂ при 240нм должна быть равна 0,550–0,520 против 50мМ фосфатного буфера, рН7.0. К аликвоте исследуемого экстракта добавляли Н₂О₂ до 3 мл и измеряли падение оптической плотности при 240 нм через 30 секунд после внесения субстрата в кювету в течение 3 минут. Активность каталаз в экстракте рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{\Delta D \cdot V_1 \cdot a}{39,4 \cdot V \cdot l \cdot c \cdot t} ,$$

где ΔD – величина падения оптической плотности; V₁ – общий объём реакционной смеси в кювете разведения; а – отношение количества буферной

смеси, взятой для экстрагирования фермента в мл к навеске растительной ткани в граммах; 39,4 – коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода ($\text{мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$); V – объем образца в кювете; c – концентрация белка в образце; l – толщина слоя в кювете; t – время в минутах. Активность рассчитывали в ммоль перекиси водорода/(мг белка·мин).

Результаты опыта статистически обработаны с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования скорости набухания и прорастания семян была выявлена неоднозначная реакция сортов люпина узколистного на предпосевную обработку различными режимами низкоинтенсивного электромагнитного излучения. Так у сорта «Митан» все режимы, но в большей степени Режим 3, стимулировали процессы набухания, тогда как у сорта «Першацвет», скорость набухания под влиянием ЭМИ различных режимов была практически на уровне контрольных значений (рис.1).

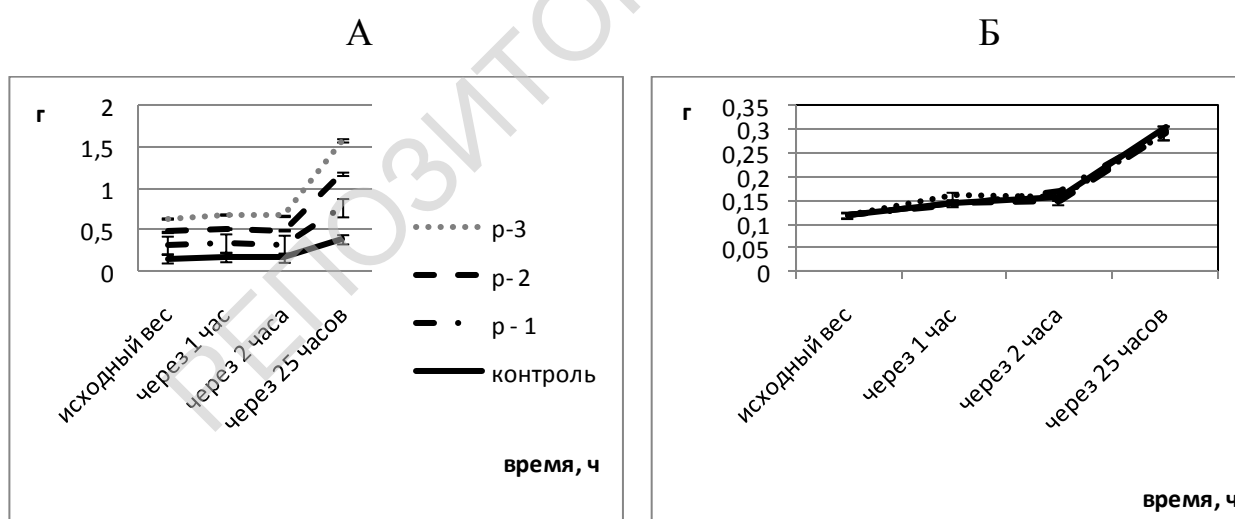


Рисунок 1. Увеличение массы семян люпина узколистного в процессе набухания после предпосевого ЭМИ воздействия: А – сорт «Митан», Б – сорт «Першацвет»

Функциональная активность клеточных мембран может быть оценена по степени выхода в окружающую среду низкомолекулярных метаболитов нуклеотидного обмена. В литературе имеются сведения, что выход низкомолекулярных нуклеотидов из клеток незначителен в норме и резко

усиливается под действием стрессовых факторов [11]. Так выявлено, что в результате предпосевного воздействия ЭМИ отмечено возрастание скорости выхода низкомолекулярных нуклеотидов у сорта «Митан» при всех режимах воздействия, но достоверные сдвиги были отмечены в случае Режимов 2 и 3 (рисунок 2 А). Анализ влияния ЭМИ обработки на выход нуклеотидов из семян сорта «Першацвет» показал, что достоверное повышение данного показателя относительно контроля отмечается только в случае Режимы 3, тогда как в отношении Режимов 1 (стимуляция) и Режимы 2 (ингибирование) изменение данного показателя не является достоверным. Таким образом, электромагнитная обработка (ЭМО) явилась стрессовым фактором для изучаемых сортов люпина узколистного. В связи с этим, интересным представлялось выяснение дальнейших эффектов ЭМИ воздействия, что выразилось во влиянии на посевные качества семян и ростовые процессы растений. Анализ всхожести и ростовых процессов показал, что увеличение выхода нуклеотидов на первичных этапах набухания приводит к снижению всхожести и торможению ростовых процессов у изучаемых сортов [12].

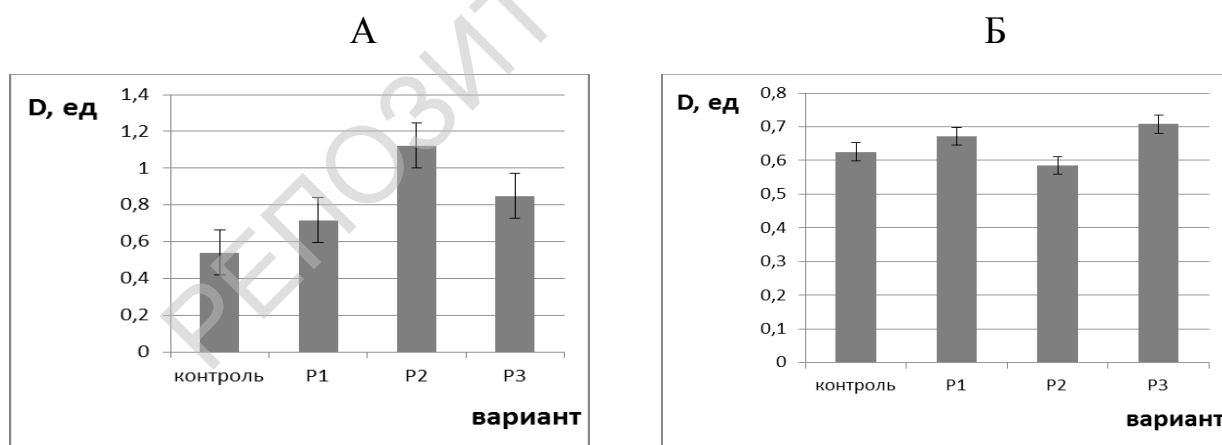


Рисунок 2. Выход электролитов в раствор через 25 ч набухания семян люпина узколистного: А – сорт «Митан», Б – сорт «Першацвет»

Всё вышесказанное свидетельствует о том, что низкоинтенсивное электромагнитное излучение СВЧ-диапазона изменяет проницаемость мембран, возможно, меняя анатомическое строение покровного слоя кожуры семени, что в конечном счете вызывает изменения в скорости протекания

метаболических реакций. Однако здесь проявляется сортовая специфичность, вероятно обусловленная некоторыми отличиями в структуре покровов семян.

Также заметный интерес для нас представляло исследование активности ферментов амилазы, каталазы как маркеров первичной стрессовой реакции растительных организмов на низкоинтенсивное электромагнитное излучение СВЧ-диапазона. Как известно, в ходе первичной индуктивной стрессовой реакции растений увеличивается проницаемость мембран, изменяется проницаемость к ионам K^+ и Ca^{2+} , что приводит к деполяризации мембран, тормозится работа H^+ -АТФ-азы, снижается рН цитоплазмы, способствующее активации гидролаз.

В ходе эксперимента было выявлено повышение активности суммарной фракции фермента амилазы в 3-х дневных растениях люпина узколистного относительно контроля. Установлена стимуляция общей активности амилазы относительно контроля в случае Режимов 1 и 3 на 95,3% выше контрольных значений и Режима 2 – 92,3% выше контроля (рис. 3):

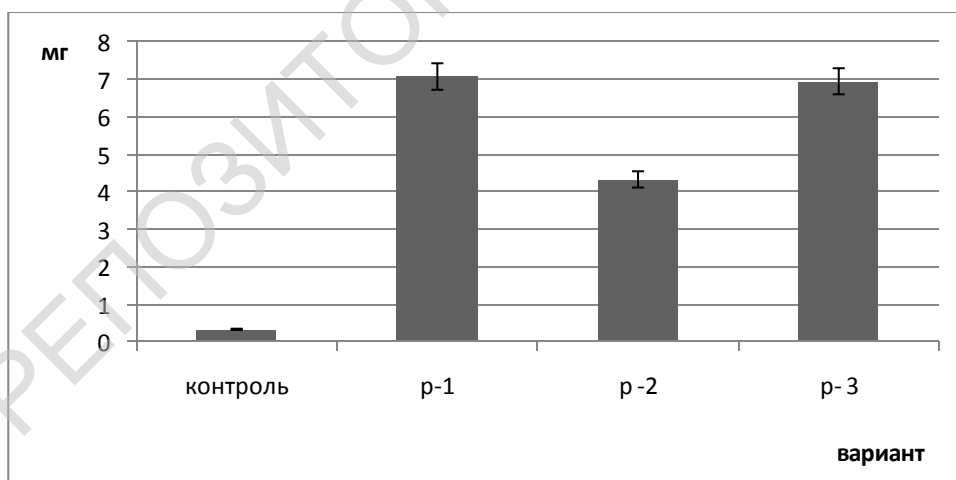


Рисунок 3. Влияние различных режимов ЭМИ на активность амилазы в 3-х дневных проростках люпина узколистного сорта «Першацвет».

Таким образом, изменение активности амилитических ферментов может расцениваться как проявление реакции растения на ЭМИ воздействие СВЧ-диапазона, приводящее к интенсификации процессов прорастания семян.

На сегодняшний день не до конца ясен сам механизм внешнего электромагнитного воздействия на биологические структуры. В научной литературе существуют различные точки зрения по поводу того, как действует электромагнитное излучение на ростовые и физиолого-биохимические процессы растений. В связи с этим актуальным было изучение эффектов внешнего микроволнового электромагнитного излучения низкой интенсивности на характер изменения активности каталазы – фермента, характеризующего антиоксидантную активность. В литературе имеются сведения о том, что в нормально функционирующих клетках содержание активных форм кислорода (АФК) поддерживается на низком уровне, так как специальные ферменты заняты их ликвидацией. Однако в стрессовых условиях содержание АФК начинает быстро расти и возникает окислительный стресс. Повреждающему действию АФК противостоит система антиоксидантной защиты, которая осуществляется на всех уровнях организации от клеточных мембран до организма в целом.

Каталаза (ЕС 1.11.16) широко распространена в растительных тканях. Сущность каталитического действия каталазы состоит в разложении перекиси водорода с выделением молекулярного кислорода. Реакция с участием каталазы требует двух молекул перекиси, из которых одна действует как донор, а другая как акцептор электронов. В живых тканях помимо каталазы перекись разлагается и пероксидазой. Однако было доказано, что каталаза выполняет каталитическую функцию независимо от присутствия пероксидазы. В отличие от пероксидаз, которые функционируют только при относительно низком уровне пероксида, каталаза способна эффективно работать при его высокой концентрации [13–16].

В ходе исследований установлено увеличение активности каталазы в 14-ти дневных проростках *Lupinus angustifolius* L. с. «Першацвет» по сравнению с контролем. Активность фермента каталазы была наиболее высокой в случае Режимы 3 и средней в Режиме 2. (рис.4):

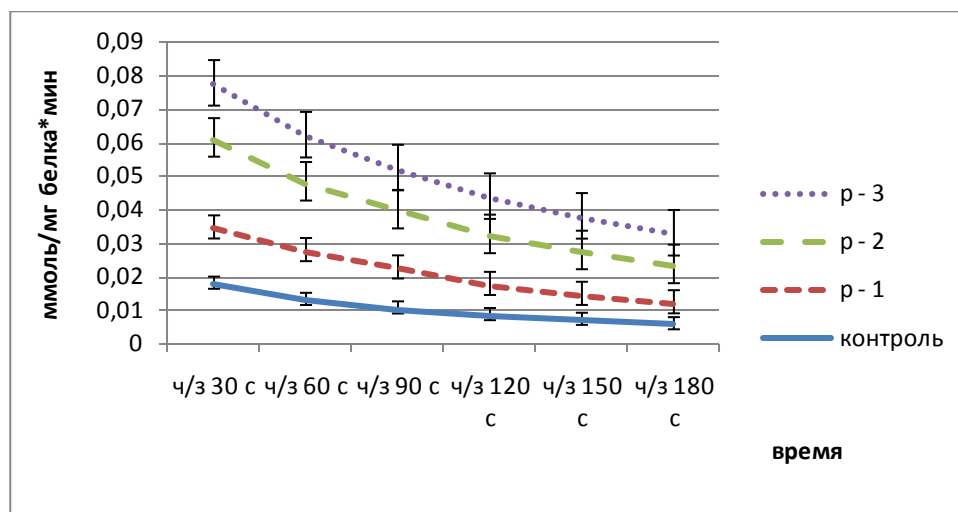


Рисунок 4. Влияние различных режимов ЭМИ на активность каталазы в 16-х дневных проростках люпина узколистного сорта «Першацвет»

Это, возможно, говорит о том, что в изучаемых растениях активно идут ростовые процессы, сопровождающиеся выделением АФК, образующихся в процессах фотосинтеза и дыхания, которые необходимо нейтрализовывать антиоксидантной системой и здесь основной удар на себя принимает каталаза.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные находятся в соответствии с предлагаемым механизмом воздействия низкочастотного ЭМП на биологические процессы. При этом весьма слабое в каждой точке внешнее воздействие проявляется практически во всем объеме клетки, но его эффекты, в конечном счете, по-видимому, локализуются в более узком примембранном слое и дополнительно усиливаются за счет различных нелинейных явлений [17]. В результате там происходит изменение ионной силы и рН, меняется проницаемость мембран к низкомолекулярным нуклеотидам и электролитам, происходят изменения в конформациях и высвобождение мембранных белков и ферментов, активация антиоксидантной системы, что приводит к сдвигам в характере метаболических процессов и в дальнейшем определяет особенности протекания ростовых процессов, в конечном итоге отражается на продуктивности растений.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Полина, Ю.В. Влияние различных частотных режимов низкоинтенсивного электромагнитного излучения и стресса на морфофункциональное состояние надпочечников: автореф. дис. канд. мед. наук: 03.00.25/ Ю.В. Полина.– 2009. – 19 с.
2. Reshetnyak, S. A. Mechanisms of Interaction of Electromagnetic Radiation with a Biosystem/ S. A. Reshetnyak, V. A. Shcheglov, V. I. Blagodatskikh, // Laser Physics.– Vol. 6.– No. 4.– 1996.– P. 621–653.
3. Казаринов, К.Д. Биологические эффекты КВЧ – излучения низкой интенсивности / К.Д. Казаринов // Итоги науки и техники. – Биофизика. – М., 1990. – Т.27. – С. 1 – 104.
4. Tambiev A. Kh. Electromagnetic Radiation and Life: Bioelementological Point of View/A. Kh. Tambiev, A.V. Skalny [Электронный ресурс]. – 2008. – Режим доступа: <http://www.intechopen.com> – Дата доступа 2.12.2012 г.
5. Леус, Н.Ф. Влияние микроволнового поля на некоторые химические показатели зерна пшеницы и ячменя/ Н.Ф. Леус, С.Г. Коломийчук, Л.Г.Калинин, В.П. Гучный, Е.А. Левченко // Хранение и переработка зерна. – 2001.– №1.– С. 41 – 44.
6. Кабашникова, Л. Ф. Способ ранней диагностики эффективности многокомпонентных капсулирующих составов для обработки семян. Метод указания / Л. Ф. Кабашникова. – Минск: Право и экономика, 2003. – 31с.
7. Задворнова, Ю.В. Влияние брассиностероидов на физиолого-биохимические показатели качества семян *Brassica oleracea* L. в условиях ускоренного старения: дис. канд. биол. наук: 03.00.12/ Ю.В. Задворнова. – Минск, 2006. – 19 с.
8. Третьяков, Н.Н. Практикум по физиологии растений /Н.Н. Третьяков, Л.А. Паничкин, М.Н. Кондратьев и др. – 4-е изд., переаб. и доп.– М.: КолосС, 2003.– 288 с.

9. Ермаков, А.И. Методы биохимических исследований растений/А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош и [др.]. Под ред. А.И. Ермакова. –3-е изд., перераб. и доп. – Л.: Агропромиздат. Ленинградское отделение, 1987.– 430 с.
10. Chance, B. Assay of catalases and peroxidases. //In: Colowick S.P., Kaplan N.O. (et): Methods in enzymology: Acad. Press, New York – 1995. – V. 2.– P. 764–775.
11. О феномене самозащиты клеток от теплового повреждения / Руденок, А.Н. [и др.] // Докл. АН СССР. – 1973. – Т. 4. – С. 977–981.
12. Кайзинович, К.Я. Особенности реакции отдельных кормовых культур на низкоинтенсивное электромагнитное воздействие / К.Я. Кайзинович, Е.А. Баханькова, П.М. Терещенкова [и др.]. // Состояние природной среды Полесья и сопредельных территорий: сборник материалов Международной науч. – практич. конф. студентов, магистрантов и аспирантов; Брест, 23 – 24 марта 2012 г. / Брест. гос. ун-т имени А.С. Пушкина; под общ. ред. Л.Н. Усачевой. – Брест: БрГУ, 2012. – С. 147 – 149.
13. Кулинский, В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза вред и защита / В.И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2–7.
14. Мерзляк, М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений / М.Н. Мерзляк // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 9. – С. 20–26.
15. Рубин, Б.А., Ладыгина М.Е. Физиология и биохимия дыхания растений. – М.: Изд-во МГУ, 1974. – 512 с.
16. Ермаков, И.П. Физиология растений: учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
17. Аксенов, С.И. Влияние низкочастотного магнитного поля на активность эстераз и изменение рН у зародыша в ходе набухания семян

пшеницы /С.И. Аксенов, А.А. Булычев, Т.Ю. Грунина и др.//
Биофизика.– 2000. –Т.45.– С. 737– 745.

РЕПОЗИТОРИЙ БГПУ

РЕЗЮМЕ

Ж.Э. Мазец, К.Я. Кайзинович, А.Г. Шутова, С.Н. Шиш, Н.В.Пушкина

«К вопросу о механизмах взаимодействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения с растительными объектами»

Статья посвящена изучению механизмов взаимодействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения с растительными объектами. Выявлены специфические сдвиги в процессах набухания и проницаемости покровов семян двух сортов *Lupinus angustifolius* L. после предпосевного электромагнитного воздействия различными частотными режимами, производимыми в НИИ Ядерных проблем БГУ. Установленные изменения активности амилалитических и антиоксидантных ферментов могут расцениваться как проявление реакции растения на ЭМИ воздействие СВЧ-диапазона, приводящее к интенсификации процессов прорастания семян.

Рис. – 4. Библиогр. – 17 назв.

SUMMARY

Z.E.Mazets, K.Y. Kauzinovich, A.G.Shytova, S.N.Shish, N.V.Pushkina

TO THE QUESTION ABOUT THE MECHANISMS OF INTERACTION OF LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION WITH PLANT OBJECTS

The article is devoted to the study of the mechanisms of interaction of low-intensity electromagnetic radiation with plant objects. Specific changes in the processes of soaking and penetration of the integument of seeds of two varieties of *Lupinus angustifolius* L. after pre-sowing electromagnetic influence by different frequency modes produced in the Research Institute of Nuclear Problems of Belarusian State University were identified. It was established that changes in the activity of amylolytic and antioxidant enzymes may be regarded as a manifestation of plant response to the EMP microwave effect leading to the intensification of the seed germination processes.