

ПЕРВИЧНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ *LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L. НА НИЗКОИНТЕНСИВНОЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Ж.Э. Мазец, К.Я. Кайзинович, В.Н. Петров, А.Г. Шутова*, Н.В. Пушкина**

Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка, Минск, Республика Беларусь, e-mail: zhannamazets@mail.ru

*НИУ «Институт ядерных проблем» БГУ, Минск, Республика Беларусь

**ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение

В течение последних сорока лет в результате работ ряда исследователей установлена высокая чувствительность биологических систем к действию на них электромагнитным полем слабой интенсивности – низкочастотного диапазона. Использование этих свойств с целью регуляции активности биологических объектов имеет большую перспективу. По мнению многих авторов, высокая чувствительность семян к низкоинтенсивному электромагнитному воздействию объясняется изменением рН и высвобождением белков из связанного состояния в водную среду, что в свою очередь ускоряет выход семян из состояния покоя [1, 2].

Существует много механизмов, регулирующих процесс прорастания, и множество барьеров, препятствующих ему, причем у разных видов эти механизмы и эти барьеры специфичны. Такая сложная система выработалась в процессе эволюции, и дает определенные преимущества растительному организму. Последнее дает возможность сохранить определенное количество жизнеспособных семян в том случае, если неблагоприятные условия привели к гибели проросшей особи. Именно поэтому прорастание семян является критическим этапом жизни растительного организма, во многом обеспечивающим выживаемость того или иного вида [3].

Как известно, любое семя имеет покровы, следовательно, первичные реакции воздействия электромагнитного излучения (ЭМИ) на семена, вероятно, связаны с изменением анатомо-морфологических свойств покровов. На эту тему имеются лишь единичные данные [4]. Поэтому актуальным представлялось микроскопическое исследование влияния ЭМИ на структуру покровов семян зернобобовых растений и в частности люпина узколистного как удачной модельной системы для решения данной проблемы, а также для выяснения особенностей физиолого-биохимических процессов, протекающих в семенах и ювенильных растениях на начальных этапах роста. Результаты исследований позволят глубже понять вопросы, связанные с механизмом взаимодействия ЭМИ с растительными объектами.

В связи с этим, **целью данной работы** являлось исследование влияния различных режимов низкоинтенсивного электромагнитного излучения СВЧ-диапазона на анатомо-морфологическую структуру и проницаемость покровов семян, их посевные качества и ростовые процессы двух сортов *Lupinus angustifolius* L. «Першацвет» и «Жодинский» на ранних этапах прорастания.

Методы исследований

Для исследования были взяты сорта *Lupinus angustifolius* L. «Першацвет» и «Жодинский» из коллекции Научно-практического центра НАН Беларуси по земледелию.

В качестве стимулирующего фактора на семена люпина было выбрано электромагнитное воздействие, которое производилось в Институте ядерных проблем БГУ на лабораторной установке для микроволновой обработки семян различных сельскохозяйственных культур в широком частотном диапазоне (от 37 до 127 ГГц) с плавной регулировкой мощности от 1 до 10 мВт.

Низкоинтенсивное электромагнитное воздействие производилось в различных частотных режимах: Режим 1 (частота обработки 53,57–78,33 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 12 минут) и Режим 3 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 8 минут). Выбор режимов обусловлен ранее выполненными теоретическими и экспериментальными исследованиями взаимодействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения с биологической мембраной, которые подтвердили правильность выбранной в качестве объекта для электродинамического анализа модели структуры биологической мембраны [5].

Лабораторный эксперимент был заложен в трехкратной повторности для каждого варианта. Семена проращивали в растительных на увлажненной фильтровальной бумаге на протяжении 7 дней при температуре 20–21⁰С. Каждая партия контрольных и опытных образцов содержала по 50 семян. Оценивали всхожесть и морфометрические показатели корней и проростков на 7 сутки прорастания. Проросшими считались семена с зародышевым корешком более 0,5 см. В результате эксперимента получены данные о всхожести, морфометрических параметрах ювенильных растений.

В лабораторном эксперименте производилась оценка скорости набухания и прорастания семян. Семена взвешивались с интервалом 1–2 часа в течение первых суток онтогенеза.

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].

Микроскопическое исследование состояния покровов семян *Lupinus angustifolius* L. Для улучшения результатов микроскопирования был произведен подбор красителя из группы красителей, поглощающих свет в видимой части спектра: нильский синий, эриохром черный; из группы флюорохромов: нильский красный.

Для окрашивания семян была модифицирована методика окраски покровов раствором красителем нильским синим (Нильский синий для микроскопии FL72480, уп/10г (72480 Fluka Nile Blue A, Standard Fluka, indicator (pH 10.2-13.0), for microscopy (Bact., Hist., Vit.). Нильский синий в водных растворах диссоциирует на синюю соль (окрашивающую в синий цвет ядра и протоплазму клеток) и красное основание (растворимое в жирах). Эта краска неодинаково окрашивает жиры и различные жироподобные вещества: нейтральные жиры — в розовый цвет, фосфатиды и цереброзиды — в голубой, жирные кислоты и мыла — в темно-синий. Окраска имеет ориентировочное значение — позволяет разбираться в природе жировых веществ и служит дополнением к другим способам окраски. Она заслуживает внимания в тех случаях, когда нет возможности использовать для дифференцировки жиров и жироподобных веществ более совершенные способы, например, исследование в поляризованном свете. Применяется в микроскопии в качестве жирорастворимого красителя для выявления липидов. Реже применяется в качестве витального (прижизненного красителя) в разведении 1:1000.

Готовили раствор красителя нильского синего в 96% этаноле (0,01 г на 1 мл). Непосредственно перед окрашиванием семян растворяли 100 мкл спиртового раствора красителя в 10 мл дистиллированной воды. Семена люпина двух сортов «Першацвет» и «Жодинский» помещали в раствор на 18 ч. Затем семена промывали в дистиллированной воде, просушивали с помощью фильтровальной бумаги, готовили срезы с помощью лезвия и подвергали микроскопированию.

При изготовлении временных препаратов срезы производились перпендикулярно через микропиле при температуре –20⁰С и при комнатной температуре. Просмотр препаратов проводился на световом микроскопе Axioskop 2 plus (Carl Zeiss, Германия) с использованием объективов A–Plan 10x/0,25 и A–Plan 20x/0,45 (окуляр WPI 10x/23). Видимое изображение

срезов, полученное в результате микроскопирования изготовленных препаратов, фиксировалось при помощи фотоаппарата Canon PowerShot G5 на цифровой носитель. Повторность опыта 5–10 кратная.

Полученные результаты обрабатывались с помощью статистического пакета программ М. Excel.

Результаты и обсуждение

В ходе исследований выявлена избирательная реакция двух сортов люпина узколистного на режимы ЭМИ СВЧ-диапазона, проявившаяся в различной всхожести. Так сорт «Першацвет» оказался наиболее отзывчивым на воздействие режимом 1 (на 22% выше контроля), тогда как режим 3 снижал всхожесть на 10 %. Отмечено снижение всхожести относительно контроля у с. «Жодинский» после воздействия режимом 3 и 1 на 16 и 24% соответственно, но особенно режимом 2 – 36%.

Накопленный многолетний опыт показывает, что снижение всхожести и урожайности бобовых культур в значительной степени связано с большой толщиной и твердостью кожуры семенного материала, затрудняющих его набухание и прорастание в почве после посева [4].

В литературе имеются отрывочные сведения по исследованию изменений, происходящих в покровных тканях прорастающих зернобобовых растений [7,8], обусловленных обработкой низкоинтенсивным электромагнитным излучением.

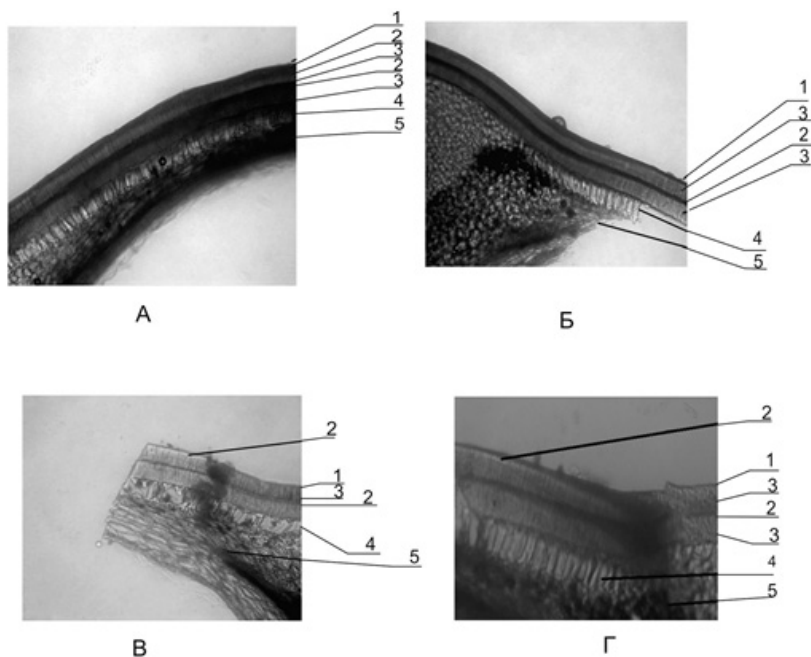
В связи с этим назрела необходимость более детально и на микроскопическом уровне изучить влияние ЭМИ строение покровов.

Выполненные нами анатомические исследования, заключающиеся в получении и микроскопическом исследовании поперечных срезов кожуры семени позволили установить, что в результате воздействия низкоинтенсивным электромагнитным излучением происходят специфические изменения в анатомо-морфологической структуре покровов семян изучаемых сортов люпина узколистного.

В ходе детального микроскопического исследования мы убедились в том, что поперечный срез кожуры семени состоит из кутикулы, палисадной ткани, световых линий, гиподермы и паренхимного слоя (рисунок 1). Самым верхним является кутикулярный слой (1), за которым следует слой палисадного эпидермиса (3). Его клетки имеют удлинённую форму и довольно плотно упакованы. Поперек в нескольких местах данный слой разделяют, так называемые, световые полосы (2), между которыми, как предполагают, распределяются всевозможные дубильные вещества семени.

Исследование показало, что после воздействия низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ – диапазона верхняя световая линия исчезала либо полностью, либо частично. Какую роль на данном этапе играет данная структура, в составе кожуры семени, пока не выявлено. Далее за палисадным эпидермисом следует слой клеток, который по форме напоминает «песочные часы», либо «восьмерку» – это гиподерма (4). Её клетки имеют довольно утолщённые стенки, соприкасающиеся друг с другом лишь концами, в связи с чем между ними образуются большие межклетники. За гиподермой располагается толстостенный слой паренхимы (5). Однако стоит отметить, что после электромагнитной обработки (ЭМО) отмечались изменения в структуре данного слоя. Он становился более рыхлым и, как результат, более проницаемым для влаги [4, 9].

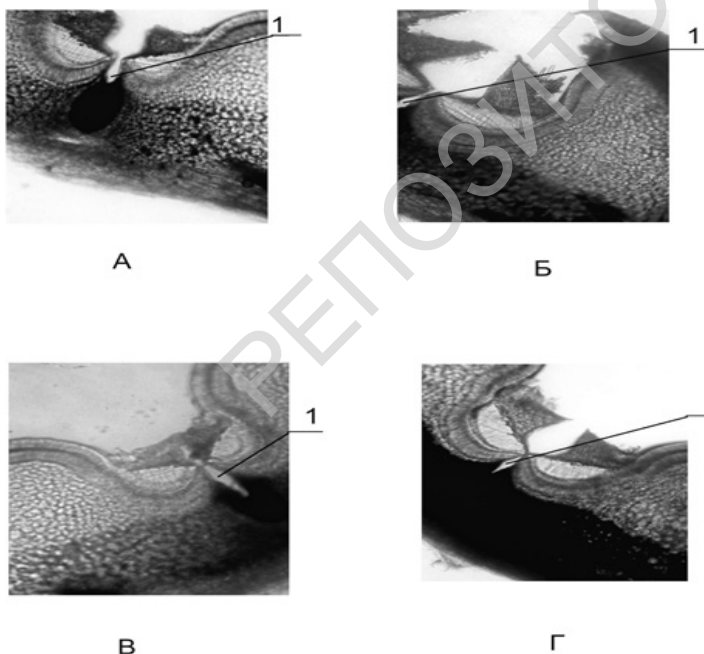
При микроскопическом анализе боковых срезов семенных покровов прорастающих 18 часов семян люпина узколистного сорта «Першацвет» выявлено, что режим 1 анатомически не отличается от контроля, под влиянием режима 2 тоньше становится кутикулярный слой и более рыхлой упаковка паренхимных клеток, а верхняя световая линия становится фрагментарной. У семян, обработанных режимом 3, покровы характеризуются более тонким слоем кутикулы, более мощным слоем гиподермы относительно контроля (рисунок 1).



- 1 – кутикула,
- 2 – световая линия,
- 3 – палисадная ткань,
- 4 – гиподерма,
- 5 – паренхима

Рисунок 1 – Поперечный срез кожуры семени *Lupinus angustifolius* L. у сорта «Першацвет» с боковой стороны: А – контроль, Б – режим – 1, В – режим – 2, Г – режим – 3

При анализе среза через рубчик набухших семян люпина узколистного сорта «Першацвет» отмечена голубая окраска покровов у входа в микропиле, говорящая о том, что покровы здесь слабо проницаемы для молекул воды и состоят из фосфатидов и цереброзидов. Вода устремляется через микропиле (1), под которым в контроле обнаруживается небольшая полость, вероятно, образованная расхождением паренхимных клеток при набухании и увеличением межклеточного пространства. У семян, обработанных тремя режимами, этой полости не выявлено, но просвет микропиле более узкий (рисунок 2).

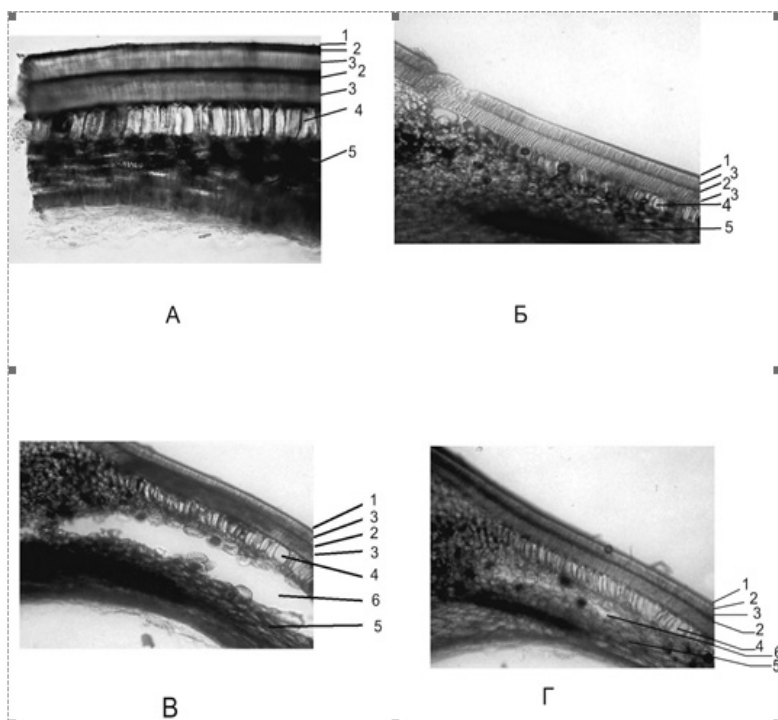


- 1 – микропиле

Рисунок 2 – Поперечный срез кожуры семени *Lupinus angustifolius* L. у сорта «Першацвет» через рубчик: А – контроль, Б – режим – 1, В – режим – 2, Г – режим – 3

Анализ бокового среза покровов люпина узколистного сорта «Жодинский» показал (рисунок 3), что в случае режима 1 световая линия становится фрагментарной, а слой гиподермы в отдельных местах разряжен.

При обработке режимом 2 отмечены значительные полости в паренхимном слое, а также отличается окраска среза относительно контроля, при этом темно-синий цвет обусловлен наличием гидрофобных жирных кислот, что сдерживает поступление воды. При воздействии режимом 3 обнаруживаются незначительные полости в паренхимном слое и менее интенсивная окраска клеток, свидетельствующая о том, что там содержатся менее гидрофобные клетки.

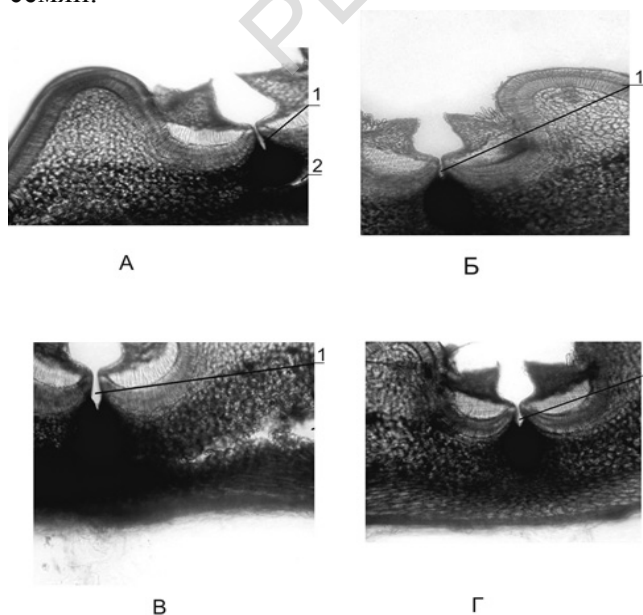


1 – кутикула, 2 – световая линия, 3 – палисадная ткань, 4 – гиподерма, 5 – паренхима, 6 – полости

Рисунок 3 – Поперечный срез кожуры семени *Lupinus angustifolius L.* у сорта «Жодинский» с боковой стороны: А – контроль, Б – режим – 1, В – режим – 2, Г – режим – 3

При оценке среза покровов семян сорта «Жодинский», производимого через рубчик, отмечено, что в контроле имеется небольшая полость (2) в паренхимном слое под входом в микропиле (1), а еще большая полость отмечена в случае режима 2 (рисунок 4). На таких же срезах семян, подвергшихся низкоинтенсивному электромагнитному воздействию режимами 1 и 3, данных полостей не выявлено. Однако имеются отличия в окраске покровов, что свидетельствует о разном компонентном составе липидов, входящих в состав покровов. Так окраска среза режима 1 говорит о том, что на поверхности находятся нейтральные жиры, а у режима 3 – жирные кислоты, фосфатиды и цереброзиды.

Подводя итог анализу микроскопического состояния покровов изучаемых сортов *Lupinus angustifolius L.* можно сказать, что появление небольших полостей в паренхимном слое клеток, вероятно, обусловлено эволюционными физиологическими процессами, сдерживающими интенсивное и быстрое набухание, что характерно для данного вида растений. Однако, при воздействии режима 2, особенно у сорта Жодинский, выявлены значительные полости, заполненные воздухом, которые заметным образом сдерживают поступление воды в семя, что подтверждается полученными нами данными по набуханию семян.



1 – микропиле, 2 – полости.

Рисунок 4 – Поперечный срез кожуры семени *Lupinus angustifolius L.* у сорта «Жодинский» через рубчик: А – контроль, Б – режим – 1, В – режим – 2, Г – режим – 3

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 [10].

Анализ влияния ЭМ обработки на выход низкомолекулярных веществ из семян *Lupinus angustifolius* L. сорта «Першацвет» спустя 25 часов после начала набухания показал, что достоверное повышение данного показателя относительно контроля отмечается только в случае Режим 3, тогда как в отношении Режимов 1 (стимуляция) и Режим 2 (ингибирование) изменение данного показателя не является достоверным (таблица 1).

Практически аналогичная реакция была отмечена у сорта Жодинский, где наиболее существенно тормозился выход нуклеотидов под влиянием режима 2, но значительно возрастал этот показатель относительно контроля при воздействии режимом 3 (таблица 1).

Таблица 1– Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на выход нуклеотидов из прорастающих 24 ч семян *Lupinus angustifolius* L.

Вариант	Выход нуклеотидов, ед	
	с. Першацвет	с. Жодинский
Контроль	0,626±0,107	0,838±0,036
Режим 1	0,672±0,061	0,806±0,008
Режим 2	0,585±0,044	0,777±0,010
Режим 3	0,708±0,036	1,079±0,015

Выводы

Таким образом, электромагнитная обработка явилась существенным стрессовым фактором для изучаемых сортов люпина узколистного. Установлены достоверные сдвиги в проницаемости покровов и анатомо-морфологической структуре семян *Lupinus angustifolius* L. сорта «Першацвет» и «Жодинский», которые в дальнейшем отразились на посевных качествах семян. Микроскопическое состояние покровов может служить первичным диагностическим показателем взаимодействия ЭМИ с растительными объектами. Вероятно, именно сдвиги в анатомо-морфологической структуре покровов обуславливают запуск дальнейших биохимических процессов, протекающих в семени и в дальнейшем в самом растении.

Список литературы

1. Петелькина, Н.В. Изучение влияния электромагнитного поля на прорастание семян хвойных пород / Н.В. Петелькина, Н.Е. Проказин, А.И. Смирнов // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства – 2013. – №1. – С. 39–43.
2. Старухин, Р.С. Метод предпосевной обработки семян с использованием эллиптического электромагнитного поля / Р.С. Старухин, И.В. Белицин, О.И. Хомитов // Ползуновский вестник. – № 4. – 2009. – С. 97–103.
3. Якушкина, Н.И. Физиология растений / Н.И. Якушкина, Е.Ю. Бахтенко. – М., 2005.
4. Влияние высокочастотной электромагнитной обработки семенного материала зернобобовых культур на их посевные качества и продуктивность / В.В. Ажаронок [др.] // Электронная обработка материалов. – № 4. – 2009. – С. 76–86.
5. Карпович В.А., Родионова В.Н. Патент РФ №5580 Способ предпосевной обработки семян овощных или зерновых культур. Выд. 23.06.2003г.
6. Задворнова, Ю.В. Влияние брассиностероидов на физиолого-биохимические показатели качества семян *Brassica oleracea* L. в условиях ускоренного старения // Дис-ция на соискание уч. ст. канд. биол. наук по спец-ти 03.00.12 – физиология и биохимия растений. – Минск, 2006.
7. 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. Бульчев, Т.Ю. Грунина. – Биофизика. – Т. 45, вып.4. – 2000. – С. 737–745;
8. Грунина, Т.Ю. Особенности влияния низкочастотного магнитного поля на набухание семян пшеницы на различных стадиях/ Т.Ю. Грунина, С.Н. Горячев. – Биофизика. Т. 46, вып.6. – 2001. – С. 1127–1132.
9. Майсурян, Н.А. Люпин / Н.А. Майсурян, А.И. Атабекова. – М.: Колос, 1974. – 463 с.
10. О феномене самозащиты клеток от теплового повреждения / А.Н. Руденок [и др.] // Докл. АН СССР. – 1973. – Т. 4. – С. 977–981.