

УДК 633.11'15'35.032'089

ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО СТРЕССА НА СВЕРХСЛАБОЕ СВЕЧЕНИЕ И РОСТ ПРОРОСТКОВ РАЗНЫХ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАСУХЕ СОРТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

ян цн цзянь, чжоу хэ

(Кафедра физиологии растений)

В опытах на разных сортах пшеницы, сон и кукурузы, различающихся по чувствительности к засухе, показано, что интенсивность сверхслабого свечения проростков в нормальных условиях проращивания семян (в дистиллированной воде) выше, чем в стрессовых условиях (в растворе сахарозы). У засухоустойчивых сортов интенсивность свечения выше, чем у незасухоустойчивых, при недостаточной влагообеспеченности. Сделано предположение, что при помощи метода, основанного на регистрации сверхслабого свечения, в комплексе с другими физиологическими методами можно оценивать засухоустойчивость растений.

Явления биохемиллюминесценции, сопровождающие биологические процессы, уже давно привлекают внимание исследователей. Впервые в 20—30-х годах XX столетия сверхслабое ультрафиолетовое излучение биологических объектов было обнаружено А.Г. Гурвичем с помощью биологического детектора [4, 13] и названо митогенетическим излучением. Из опыта А.Г. Гурвич сделал 2 основных вывода для «учения о митогенезе».

В 1954—1955 гг. интересные наблюдения хемиллюминесценции

растений в видимой области спектра были сделаны Кали, Фаччини с сотрудниками [12] при помощи фотоумножителя, охлаждаемого сухим льдом. Несколько позже в СССР исследователям удалось обнаружить, что существует более распространенное свечение в биологических системах, которое можно обнаружить только с помощью высокочувствительных фотоумножителей [2, 8]. Это слабое излучение универсального типа по своей природе явно отличается от свечения в видимой части спектра. Уже сейчас показано,

Печатается в рамках сотрудничества и обмена опытом.

что оно присуще всем живым клеткам [5, 8] и несет в себе важную информацию о происходящих в них физико-химических процессах.

Характер спектра у различных клеток приблизительно одинаков и охватывает широкую область — от 380 до 800 мкм. В ряде работ была установлена корреляция между интенсивностью обмена или степенью его нарушения и интенсивностью свечения, что свидетельствует о возможности получения информации о роли квантовых явлений в метаболизме [5, 9, 10].

В результате исследований, проведенных группой ученых во главе с А.Ф. Рорр в Германии [14—16], был разработан прибор для обнаружения сверхслабого свечения высокой чувствительности и высказаны предположения, что DNA — это один из эмиссионных источников сверхслабого свечения биологических объектов, что между живыми клетками существует определенная взаимосвязь и что сверхслабое свечение связано с информативной деятельностью клеток.

Изучение механизма биологического сверхслабого свечения интенсивно проводится в настоящее время [1, 3, 6, 11]. Интерес к нему сильно возрос после того, когда было показано, что при помощи метода регистрации сверхслабого свечения можно контролировать состояние липидных энергетических цепей мембран клеток. Наблюдение за сверхслабым излучением позволяет быстро и рано обнаружить дефекты в этой системе, возникающие при действии внешних факторов.

Являясь бесконтактными и малоповреждающими, биохемилюминесцентные методы принадлежат к тем немногим методам, которые позволяют на целых клетках, тканях и органах наблюдать за локальными изменениями в биомембранах.

Повышение устойчивости растений к вредным воздействиям окружающей среды является одной из важнейших задач сельскохозяйственной науки. Имеются исследования, показывающие возможность использования метода сверхслабого свечения для оценки степени засухо-, морозо-, жаро- и солеустойчивости растений. В настоящее время наблюдения за характером изменения уровня свечения проростков различных растений в ответ на действие факторов окружающей среды показало, что для каждого вида растений и отдельного сорта существует некоторая критическая точка. Это дает основание для разработки экспресс-методов оценки устойчивости растений к различным неблагоприятным факторам среды.

Однако методы, основанные на использовании сверхслабого свечения, еще редко применяются для решения прикладных задач, видимо, из-за недостаточной популяризации накопленного в этой области опыта. Мы попытались разработать быстрый, объективный и простой метод для оценки устойчивости сортообразцов растений к неблагоприятным условиям среды, в частности, к действию неосмотических концентраций сахарозы в питательной среде. Используя этот метод, мы хотели

прежде всего убедиться, что информация, получаемая с его помощью, объективно отражает физиологическое состояние растений. Определялось соотношение уровня сверхслабого свечения и степени устойчивости растений к засухе с тем, чтобы по этому показателю проводить их оценку и отбор для дальнейшего использования в селекционной работе.

Методика

Сверхслабое свечение регистрировали на однофотонной установке (квантометрической) LS-5801 производства компании «Beckman» США. Прибор для измерения слабых световых потоков обладает автоматической оперативной системой, что делает возможным автоматическую регистрацию квантов света. Область спектральной чувствительности находится в пределах 360—760 мкм. Интенсивность сигнала от объекта была выше фона установки в 5—10 раз. При измерении свечения гомогенат помещали в специальную камеру, светопропускаемое окошко которой находилось возле фотоумножителя. Время измерения — 60 мин. Прибор автоматически записывал результат, который оценивали либо по средней амплитуде на диаграммной ленте, либо по площади, ограниченной кривыми показаний прибора на диаграммной ленте.

В качестве объектов исследования были выбраны: 2 сорта сои — Wenfeng 7 — засухоустойчивый, Zao shu 4 — контрольный, т.е. чувствительный к засухе; сорта пшеницы — Taiyuan 633 и Nanxuan 10 — засухоустойчивые и со-

ртообразец 91098 — контрольный; сортообразцы кукурузы 921067 — засухоустойчивый, 921089 — контрольный. Семена сои и пшеницы получены из института сорт-ресурсов Сельскохозяйственной научной академии КНР. Морфологические признаки засухоустойчивости этих сортов хорошо изучены. Семена кукурузы взяты на агрономическом факультете Пекинского сельскохозяйственного института.

Засухоустойчивость растений определяли по влиянию гипертонического раствора сахарозы на интенсивность свечения проростков растений, выращенных из семян. Контролем служили проростки, выращенные в дистиллированной воде. При действии гипертонического раствора проявляются различия растений по устойчивости к обезвоживанию, это и позволяет выявить хемиллюминесцентный метод.

В предыдущих работах было показано, что необходимая для получения гипертонического раствора концентрация сахарозы составляет 0,3%.

После замачивания семян опытных и контрольных образцов их поместили на фильтровальную бумагу и выращивали по общепринятым методикам. У проростков измеряли интенсивность сверхслабого свечения.

Все опыты повторяли 2 раза. В период исследований поддерживали постоянные температуру (21—26 С) и влажность воздуха. Проростки находились в темноте, и никаких искусственных воздействий на них не допускалось.

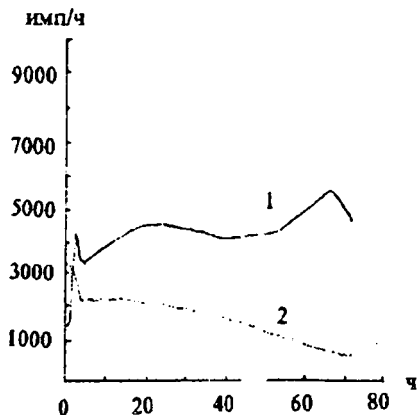


Рис. 1. Интенсивность свечения проростков пшеницы, выращиваемых в дистиллированной воде (1) и в растворе сахарозы (2).

Результаты

Сверхслабое свечение появилось уже при смачивании сухих семян, а через 2 ч наблюдались различия в свечении в вариантах выращивания пшеницы в растворе сахарозы и в дистиллированной воде (рис. 1), выражающиеся в значительном понижении интенсивности свечения в первом случае. С этого момента свечение может отражать степень физиологического метаболизма. В дальнейшем различия вариантов увеличивались до 72 ч. При этом свечение проростков в растворе сахарозы опускалось почти до фона установки. Подобный результат был получен нами в опытах с кукурузой и соей.

Вычисление коэффициента роста показало, что в варианте с раствором сахарозы коэффициент роста за 24 ч у сои составил 16,7%, за 48—26,7%, а в дистиллированной воде был заметно

выше — соответственно 26,7 и 57%. У пшеницы сорта Nanxuan 10 (засухоустойчивого) коэффициент роста в опытном и контрольном вариантах был равен соответственно 30 и 90%.

Из приведенных данных следует, что значения коэффициента роста и интенсивности сверхслабого свечения соответствуют друг другу. Так, при проращивании семян в растворе сахарозы рост проростков замедлялся, снижалась и интенсивность их свечения.

Сравнение интенсивности свечения проростков 2 сортов сои, различающихся по засухоустойчивости, в неблагоприятных условиях (при проращивании семян в растворе сахарозы) свидетельствует о том (рис. 2), что у сорта Wenfeng 7 она значительно выше, чем у контрольного Zao shu 4 ($P < 0,05$). В первом случае максимум свечения отмечался через 24 ч, а в последнем — через 42 ч и был заметно ниже.

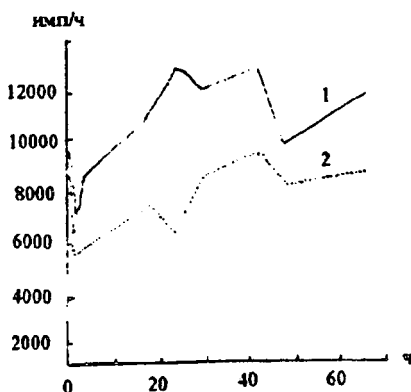


Рис. 2. Интенсивность сверхслабого свечения проростков сортов сои Wenfeng 7 (1) и Zao shu (2) при неблагоприятных условиях проращивания (в растворе сахарозы).

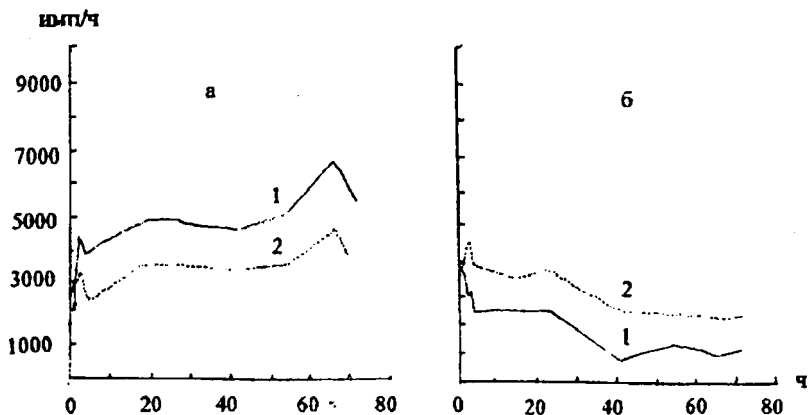


Рис. 3. Интенсивность сверхслабого свечения проростков пшеницы сортов 91098 (1) и Nanxuan 10 (2) при проращивании в дистиллированной воде (а) и в растворе сахарозы (б).

При действии раствора на засухоустойчивые сорта разных культур у них быстрее и в большем количестве образуются корни, больше длина корней, что и обеспечивает усиление интенсивности свечения.

У пшеницы сортов Nanxuan 10 (засухоустойчивого) и 91098 (чувствительного к засухе) в варианте с раствором сахарозы коэффициенты роста были равны соответственно 27—30 и 10,1%. Семена этих сортов проращивали в дистиллированной воде и в растворе сахарозы. В результате было установлено (рис. 3), что при благоприятных условиях интенсивность свечения оказалась выше у сорта 91098, чем у Nanxuan 10, а в неблагоприятных, наоборот, значения этого показателя у сорта Nanxuan 10 были выше, чем у 91098. Подобная картина получена и в опыте с кукурузой.

Таким образом, приведенные

данные указывают на то, что различия сортов по степени засухоустойчивости можно определить с помощью метода измерения сверхслабого свечения. В общем, у чувствительного к засухе сорта интенсивность свечения немного выше при нормальном состоянии (в дистиллированной воде), а в условиях засухи засухоустойчивый сорт обладает определенным преимуществом в период выращивания.

В опыте с кукурузой отмечались достоверные различия ($P < 0,05$) в интенсивности слабого свечения у чувствительного к засухе сорта 921067 в вариантах проращивания в растворе сахарозы и в дистиллированной воде (рис. 4). У засухоустойчивого сорта 921089 различия практически отсутствовали в начале проращивания и проявились только через 42 ч. Более сильная реакция на засуху у чувствительного к ней сорта связана, видимо, с более низким ко-

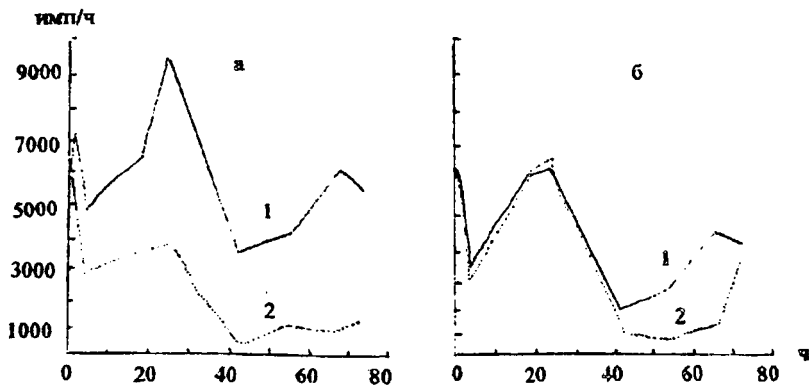


Рис. 4. Интенсивность сверхслабого свечения проростков кукурузы сортов 921067 (а) и 921089 (б) при проращивании в дистиллированной воде (1) и в растворе (2).

эффицентом поглощения воды семнами, что ведет к задержке развития проростков и определяет пониженную интенсивность свечения. У засухоустойчивого сорта адаптация к среде выше, поэтому он слабее реагирует на недостаток влаги и интенсивность свечения у него изменяется в меньшей степени.

Обсуждение

Исследования в области сверхслабых свечений показали, что они присущи всем живым клеткам и могут служить источником ценной информации о физиологическом состоянии клеток. Биохемилюминесценция в основном связана с окислением биолпидов и с реакцией рекомбинации перекисных свободных радикалов в биологических системах [8]. Общая схема подобного типа реакций, по А.И. Журавлеву (1965), применительно к углеводородам и липидам складывается из процессов развития:

1. $R \cdot + O_2 \rightarrow ROO \cdot$
2. $ROO \cdot + RH \rightarrow ROOH + R \cdot$
3. $ROO \cdot + ROO \cdot \rightarrow [P]^* + O_2 \rightarrow R + O_2 + hv$

Оценка засухоустойчивости растений должна базироваться на комплексной информации о первоначальных структурных изменениях биомембран и их функций, которую, как показали наши опыты, можно получить с помощью биофизических экспресс-методов определения засухоустойчивости растений, основанных на регистрации сверхслабого свечения проростков.

Выводы

1. При проращивании семян в нормальных условиях непрерывное измерение сверхслабого свечения проростков может дать объективную информацию о физиологическом состоянии растительного организма.
2. Интенсивность сверхслабого свечения проростков в нормальных условиях проращивания выше, чем в стрессовых.

3. У засухоустойчивых растений интенсивность сверхслабого свечения выше, чем у незасухоустойчивых, при неблагоприятных условиях.

4. Биохемиллюминесцентная реакция растения на действие стресса отражает характер сорта, и изучение особенностей этой реакции может открыть более широкие возможности в выяснении механизмов устойчивости растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Веселовский В.Ф., Веселова Т.В.* Люминесценция растений. Теорет. и практ. аспекты. М.: Наука, 1990. — 2. *Владимиров Ю.А., Литвин Ф.Ф.* О механизме сверхслабых свечений в биоллюминесценции. — Тр. МОИП, т. 21. М.: Наука, 1965, с. 106—110. — 3. *Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П., Азимбаев Т.К.* Активированная кумарином хемиллюминесценция липопротенидов низкой плотности в присутствии ионов двухвалентного железа. — Биофизика, 1995, т. 40, вып. 2, с. 323—327. — 4. *Гурвич А.Г., Гурвич Л.Д.* Митогенетическое излучение. М.: Медгиз, 1945, с. 284—291. — 5. *Журавлев А.И., Веселовский В.А.* Сверхслабые свечения в медицине и сельск. хоз-ве. М.: Изд-во МГУ, 1974, с. 177. — 6. *Журавлев А.И.* Биохемиллюминесценция. М.:

Наука, 1983. — 7. *Погосян С.Н.* Исследование особенностей биохемиллюминесценции корневой системы растений. — Автореф. канд. дис. М., 1974. — 8. *Тарусов Б.Н., Поливода А.И., Журавлев А.И.* Изучение сверхслабой спонтанной хемиллюминесценции животных клеток. — Биофизика, 1961, вып. 4, с. 490—496. — 9. *Тарусов Б.Н., Иванов И.И., Петрусевич Ю.М.* Сверхслабое свечение биологических систем. М.: Изд-во МГУ, 1967. — 10. *Тарусов Б.Н., Журавлев А.И.* Сверхслабые свечения в биологии. М.: Наука, 1972. — 11. *Чжоу Хэ. Ян Цицзянь.* Изучение взаимосвязи между сверхслабой люминесценцией и способностью зерновок противостоять прорастанию в колосе у пшеницы в условиях спелости. — Развитие биохимии и биофиз. КНР, 1995, вып. 22, № 3, с. 241—244. — 12. *Colli L., Facchini U.* — *Nuovo Cimento*, 1954, vol. 12, N 1, p. 40—44. — 13. *Gurwitsch A.G.* — *Arch. Entw. Mech. Org.*, 1923, Bd 100, S. 11—40. — 14. *Popp F.A., Nagl W., Li K.H.* — *Cell Biophys.*, 1984, vol. 6, p. 35—52. — 15. *Popp F.A., Li K.H., Mei W.P.* — *Experientia*, 1988, vol. 44, p. 576—585. — 16. *Popp F.A., Li K.H., Gu Q.* *World Scientific*. Singapore, 1992, p. 517—570.

Статья поступила 17 июня
1997 г.

SUMMARY

It was known that superweak luminescence exists in all animals and plants. The luminescence gives important information about metabolism and energy transformation in a living biological organism. In this paper it is described that the superweak luminescence of several plant varieties was measured in distilled water and in cane-sugar solution, and their ability of resistance to drought was compared. The resistant varieties have higher luminescence in stress condition. The luminescence difference among varieties will become an indicator of plant resistance the will be applied in agricultural production.