

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 633.11:[581.823+581.824]+578.686

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТКАНЕЙ КОЛЕОПТИЛЯ И ЭПИКОТИЛЯ ПШЕНИЦЫ

М. Ю. Касаткин, С. А. Степанов, А. М. Страпко

*Саратовский национальный исследовательский государственный
университет им. Н. Г. Чернышевского
Россия, 410012, Саратов, Астраханская, 83
E-mail: kasatkinmy@info.sgu.ru*

Поступила в редакцию 30.01.2017 г.

Влияние этиоляции на спектральные характеристики тканей колеоптиля и эпикотила пшеницы. – Касаткин М. Ю., Степанов С. А., Страпко А. М. – Цитофотометрическим методом исследовались спектральные характеристики колеоптиля и эпикотила пшеницы. Рост колеоптиля прекращался с прорывом его первым листом на 9-е сутки с момента замачивания семян. Рост эпикотила начинался на 6-е сутки с момента начала опыта. В колеоптиле оценивалась оптическая плотность участка в 300 мкм его верхушки, паренхимы и проводящего пучка в средней и нижней частях. В эпикотиле исследовалась оптическая плотность паренхимы коры и центрального цилиндра в верхней части органа.

В колеоптиле и эпикотиле обнаружено присутствие нескольких различных пигментных систем, поглощающих в синей и красной частях видимого спектра и не перекрывающихся по своим спектральным характеристикам. Колеоптиль в условиях темноты имеет максимальное светопроведение. Установлена тканеспецифичность в распределении пигментных систем в указанных структурах.

На основании проведенных исследований выявлено, что этиолированные органы проростков пшеницы, эпикотиль и колеоптиль, различаются по спектральным характеристикам. В направлении продольной оси колеоптиля сверху вниз наблюдается изменение оптической плотности и спектральных характеристик данного органа. По мере роста органов отмечается изменение как спектральных характеристик, так и оптической плотности в целом по исследуемым тканям. Специфика роста колеоптиля, как структуры ограничен-

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ного роста с максимально дифференцированной верхушечной частью, объясняет изменение пигментных систем в верхушке их перестройкой, тогда как в нижележащих областях, преимущественно изменением ростовой активности слагающих их тканей.

Оптические параметры тканей колеоптиля и эпикотиля являются динамической саморазвивающейся системой как во временной, так и в пространственной системе координат проростка. Верхушка колеоптиля обнаруживает периодические изменения оптической плотности во всех участках спектра в процессе прорастания, с максимумом поглощения в синей области спектра. Волнообразное изменение оптических характеристик в отсутствие ростовой активности в верхушке колеоптиля может свидетельствовать о реализации алгоритма случайного поиска светового сигнала в условиях этиоляции.

Ключевые слова: рост, этиоляция, спектральные характеристики, пшеница.

Influence of etiolation on spectral properties of wheat coleoptile and epicotile tissues. – Kasatkin M. Y., Stepanov S. A., Strapko A. M. – Spectral characteristics of wheat coleoptile and epicotyl was investigated by cytophotometry. Coleoptile growth stopped with his breakthrough of first sheet on the 9th day after seeds soaking. Growth of epicotyl began on 6th day since the start of the experience. The coleoptile evaluated the optical density of the plot is 300 mm and its top parenchymal and vascular bundle in the middle and lower parts. The optical density of epicotyl was investigated in parenchyma of cortex and central cylinder by the top of the body.

The coleoptile and epicotyl revealed the presence of several different pigment systems that absorb in the blue and red parts of the visible spectrum and have a non-overlapping spectral characteristics. Coleoptile in dark conditions has a maximum lightpiping. Mounted in tissue-specific distribution of pigment in these systems structures.

On the basis of the research revealed that the bodies of etiolated wheat seedlings – epicotyl and coleoptile different spectral characteristics. In the direction of the longitudinal axis of the coleoptile downward observed change in absorbance and the spectral characteristics of the body. As the bodies of growth is observed as a change in the spectral characteristics and the optical density in the whole of the tissue. Specificity coleoptile growth as limited growth structure with a maximum differentiated apical part explains the changes in pigment systems at the top of their restructuring, while in the lower areas mainly changes in growth activity of their constituent tissues.

Optical parameters of coleoptile and epicotyl tissues are dynamic self-developing system in both the time and the spatial coordinate system of the seedling. The top of the coleoptile detects periodic change in the optical density in all parts of the spectrum in the process of germination, with an absorption maximum in the blue region of the spectrum. Undulating change in the optical characteristics in the absence of growth activity in coleoptile tip may indicate a realization of the random search algorithm of light signal in a etiolation.

Key words: growth, etiolation, spectral properties, wheat.

DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-1-50-59

Свет оказывает разностороннее влияние на растительный организм, на что обращалось внимание как в ранних работах, так и в последующих исследованиях (Дарвин, 1941; Медведев, 2012). Воздействие светового потока на растение в современном понимании оценивается с нескольких позиций: с одной стороны, свет является источником энергии, с другой – самым быстроменяющимся информативным фактором внешней среды (Dietz, 2015; Vignolini et al., 2013). Световое воздействие сильно зависит от оптических свойств растительных тканей, изменяющихся в процессе онтогенеза (Vogelmann, 1993). Кроме того, реагировать на световое воздействие могут лишь те структуры, которые обладают в данный момент чувствительностью к нему, что зависит от наличия рецепторов светового сигнала (пигментов хромофорных групп биологически активных молекул) и каскадных усилителей-преобразователей воспринимаемых сигналов в клетке (Касаткин и др., 2010). Последующая реализация светового воздействия проявляется в иерархически организованном во времени и пространстве каскаде ответных реакций растения на молекулярном, цитологическом и организменном уровнях (Dietz, 2015).

Особое внимание с этих позиций, по нашему мнению, следует уделить изучению процесса этиоляции. Этиолированный орган можно рассматривать как оптимальный когерентный приёмник в виде конкретной структурно-функциональной единицы, способной к реализации возможной программы развития базовых физиологических ответных реакций на внешнее воздействие, включая и световое излучение. Дифференцирующиеся в условиях отсутствия света клетки и ткани растения в этом плане являются минимизированной физиологической конструкцией для реализации определенной стратегии ответной реакции растения, на которой надстраиваются другие иерархически организованные процессы направленного, структурированного морфогенеза.

Целью настоящего исследования являлось определение спектральных характеристик этиолированных тканей колеоптиля и эпикотиля путём решения следующих задач: 1) выявить динамику изменения оптических свойств тканей колеоптиля и эпикотиля; 2) оценить

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

распределение пигментных систем по тканям указанных органов; 3) установить изменение спектральных характеристик тканей по продольной оси колеоптиля.

Материалы и методы

Исследования проводились на кафедре микробиологии и физиологии растений Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. Объектом изучения являлись мягкая пшеница *T. aestivum*, жизненная форма яровая, сорт Саратовская 29. Семена проращивались в термостатируемых условиях в вермикулите при 18 °С с глубиной заделки семян 6 см в абсолютной темноте, которая достигалась их помещением в металлический цилиндр, накрытый сверху колпаком из плотной черной бумаги.

Исследование спектральных характеристик проводили согласно методики для цитофотометрических исследований (Агроскин и др., 1977). Источником света служила галогеновая лампа накаливания мощностью 75 Вт. Пучок света большой степени монохроматичности (± 2 нм) подавался на микроскоп МББ-1А. Для получения света с узкой длиной волны использовался монохроматор спектрофотометра SPEKOL 11. Системой диафрагм микроскопа и его конденсором пучок света, непосредственно освещающий препарат, центрировался относительно входного отверстия объектива. Визуальный контроль за перемещением препарата и регистрация прошедшего света осуществлялся с помощью бинокулярной насадки АУ-26 для микроскопа. Регистрация интенсивности света, прошедшего через препарат, достигалась при помощи специального переходника. Отсчёт интенсивности света проводился по величине фототока на микроамперметре М93. Для увеличения чувствительности метода и уменьшения ошибок эксперимента после нахождения и установки нужного участка препарата второй окуляр насадки закрывался светонепроницаемым колпачком.

Для более точной дифференциации оптических свойств различных тканей проростка нами было внесено усовершенствование в стандартную цитофотометрическую установку (Агроскин, 1977), в частности, между fotocувствительной поверхностью ФЭУ и выходным отверстием окуляра помещалась изменяемая ирисовая диафрагма. Видимая область на препарате, ограниченная отверстием диафрагмы, юстировалась и контролировалась во время эксперимента линейкой во вто-

ром окуляре насадки. Оптическая плотность всех тканей пересчитывалась на прохождение света через 1 мм ткани.

Оптические свойства тканей изучались у колеоптиля и эпикотилия. Рост колеоптиля прекращался с прорывом его первым листом на 9-е сутки с момента замачивания семян. Рост эпикотилия начинался на 6-е сутки с момента начала опыта. В колеоптиле оценивалась оптическая плотность участка в 300 мкм его верхушки, паренхимы и проводящего пучка в средней и нижней частях. В эпикотилие исследовалась оптическая плотность паренхимы коры и центрального цилиндра в верхней части органа.

Результаты и их обсуждение

Как показали проведенные исследования, оптические свойства тканей колеоптиля различаются уже в самом начале опыта. В верхушке колеоптиля (примерно 300 мкм) обнаруживается сразу несколько пиков поглощения в синей области спектра (410, 430, 450 470 нм) с наиболее характерным из них в области 450 нм. В желто-зеленой области присутствуют максимумы поглощения, соответствующие 510 и 530 нм. В красной области наблюдалось наличие четко выраженной области поглощения в районе 660 нм (рис.1).

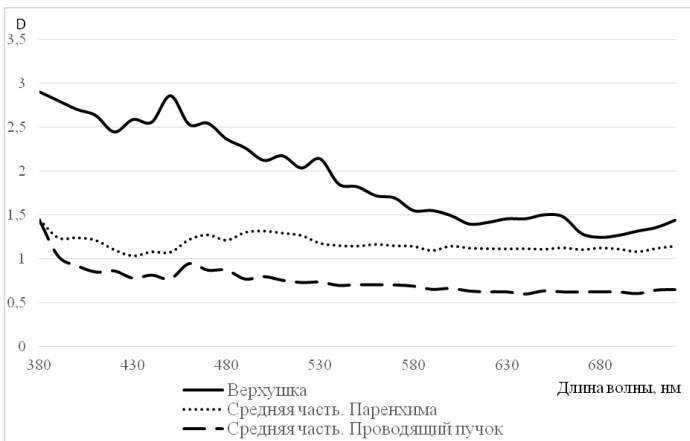


Рис. 1. Оптическая плотность тканей колеоптиля через двое суток с момента начала опыта

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Полученные данные хорошо согласуются с наблюдениями о стимулирующем влиянии света при его воздействии на апикальную часть верхушки (Lange, 1927). Наибольшей чувствительностью при этом обладают первые 100 мкм верхушки coleoptila, в нижележащих зонах чувствительность к свету падает экспоненциально. Широкий диапазон в синей области спектра и наличие поглощения в красной подтверждают наличие фототропической и фотоморфогенетической функции у coleoptila, реализованной в тканях его верхушки.

В средней части coleoptila, где хорошо выражена паренхима, установлено различие между ней и проводящими пучками по поглощению в видимой части спектра. В частности, паренхимные клетки средней части coleoptila имеют незначительные максимумы поглощения при 470 и 500 нм, тогда как проводящие пучки обладают единственным максимумом поглощения при 460 нм. В остальных участках спектра их оптическая плотность одинакова в пределах ошибки измерения, что лишний раз доказывает выполняемую им функцию светопроведения (Касаткин и др., 2010).

При отсутствии света в наших исследованиях развитие эпикотиля наблюдалось на 6-е сутки с момента замачивания семян. В это время coleoptиль продолжал рост и прорывался первым зародышевым листом на 9-е сутки. Оптические свойства тканей эпикотиля в начале развития данной структуры (на 9-е сутки с момента начала опыта) изображены на рис. 2.

По результатам исследований выявлено, что паренхимные клетки коры эпикотиля имеют слабо выраженные области поглощения при 410, 440, 470 нм. В желтой области хорошо различим пик при 510 нм. В красной области спектра обнаружена широкая область поглощения в районе 640 – 680 нм.

Паренхимные клетки сердцевины эпикотиля также имеют нечеткие области поглощения при 410 и 430 нм. Хорошо различимыми областями поглощения являются 450 и 480 нм. В красной области также присутствует более выраженная область поглощения в районе 640 – 680 нм. Это свидетельствует о наличии в тканях нескольких различающихся фотосистем. Вопрос о степени вклада этих систем в общий морфогенез проростка остаётся открытым.

Определение в ходе исследований средней оптической плотности тканей колеоптиля и эпикотили в синей (400 – 490 нм), желто-зелёной (500 – 590 нм) и красной (600 – 700 нм) областях видимой части спектра позволило изучить дальнейшее развитие пигментных систем тканей указанных органов.

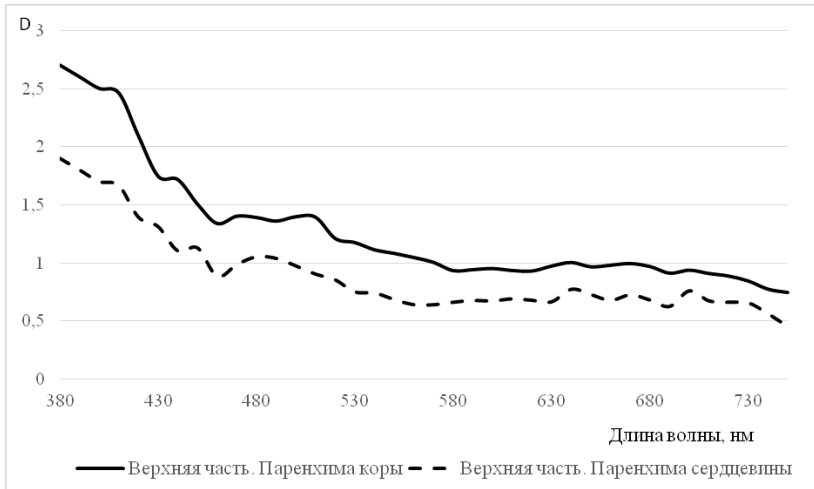


Рис. 2. Оптическая плотность тканей эпикотили в начале развития (через 9 суток с момента начала опыта)

В период со 2-го по 9-й день роста колеоптиля, проявляющегося в увеличении его линейных размеров в длину и дифференциации клеток, представленных в нём, вначале наблюдалось уменьшение оптической плотности в синей области спектра в верхушке колеоптиля (от 2.559 до 0.619) с последующим возрастанием до 1.478 в момент прорыва 1-м листом. В красной области спектра характер изменения оптической плотности сходен с описанными изменениями в синей области спектра – уменьшение с 1.396 до 0.383 с последующим возрастанием до 0.977. Таким образом, нами отмечено, что верхушка колеоптиля обнаруживает периодические изменения оптической плотности во всех участках спектра в процессе прорастания, с максимумом поглощения в синей

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

области спектра. Максимальное различие между изучаемыми областями спектра отмечается на 2-й день от замачивания семян. В дальнейшем оптическая плотность начинает выравниваться по всем участкам спектра. На 9-е сутки с момента начала опыта различия в оптической плотности в желто-зеленой и красных областях исчезают, что, по-видимому, связано с прорывом coleoptила 1-м листом и запуска процессов апоптоза.

Столь раннее развитие различий в оптических характеристиках coleoptила связано прежде всего с окончившейся к моменту прорастания дифференциацией тканей верхушки (Бойсен-Иенсен, 1933) с последующей активацией в ней пигментных систем. Волнообразное изменение оптических характеристик в отсутствие ростовой активности в этой зоне coleoptила может свидетельствовать о реализации алгоритма случайного поиска светового сигнала в условиях этиоляции (Гринченко, Загускин, 1989). Данное изменение связано с перестройкой пигментных систем, а не ростовой активности данного участка органа.

В средней части coleoptила отмечено существенное увеличение оптической плотности в синей области спектра в проводящих тканях (от 0.842 до 2.197). Указанная часть coleoptила обнаруживает более высокую оптическую плотность по сравнению с верхушкой. На 2-е сутки от момента прорастания оптическая плотность этой части coleoptила одинакова по всем спектральным интервалам в пределах ошибки. При дальнейшем росте coleoptила в красной области спектра coleoptиль становится менее оптически плотным относительно других участков спектра.

Оптическая плотность проводящего пучка в начале опыта меньше, чем близлежащих клеток паренхимы. В дальнейшем эта характерная картина изменяется – оптическая плотность проводящего пучка в среднем в 2 раза превышала плотность паренхимных клеток во всех областях спектра. В этот же период роста в паренхиме coleoptила отмечено возрастание оптической плотности: в синей области спектра – от 0.744 до 1.143, в желто-зеленой – 0.577 – 0.885, в красной области – от 0.393 до 0.829. Максимальное пропускание света проводящим пучком относительно паренхимных клеток указывает на сформированность системы восприятия света к моменту прорастания семени. Изменение оптической плотности обусловлено ростовой активностью и,

главным образом, изменением ультраструктуры клеток. Например, развитие центральной вакуоли и пристеночное положение цитоплазмы в паренхимных клетках при их растяжении позволяет увеличить их светопроведение, что сказывается на уменьшении оптической плотности указанной ткани.

Как установлено нами, поглощение света паренхимными клетками центрального цилиндра в верхней части эпикотилия не изменяется (0.710) в желто-зеленой и красной областях спектра в процессе роста проростка, тогда как в синей области оптическая плотность уменьшается с 1.290 со стабилизацией к концу опыта в районе 0.909. Это может свидетельствовать о преимущественном вкладе в оптические свойства эпикотилия ростовой активности его тканей. Коровая паренхима эпикотилия в средней части является более оптически плотной, чем паренхимные клетки центрального цилиндра, что может указывать на оптическое экранирование данной тканью центрального цилиндра эпикотилия.

Таким образом, на основании проведенных исследований выявлено, что этиолированные органы проростков пшеницы – эпикотиль и колеоптиль, различаются по спектральным характеристикам. По мере роста органов наблюдается изменение как спектральных характеристик, так и оптической плотности в целом по исследуемым тканям. Специфика роста колеоптиля, как структуры ограниченного роста с максимально дифференцированной верхушечной частью, объясняет изменение его пигментных систем в верхушке преимущественно их перестройкой, тогда как в нижележащих областях – за счёт изменения ростовой активности слагающих их тканей. Оптические параметры тканей колеоптиля и эпикотилия являются динамической саморазвивающейся системой как во временной, так и в пространственной системе координат проростка.

Выводы

1. В колеоптиле и эпикотиле отмечено присутствие пигментных систем, поглощающих в синей и красной областях спектра.
2. Спектральные характеристики колеоптиля и эпикотилия тканеспецифичны, что позволяет говорить о дифференциации и модулировании смены пигментных систем с самого начала прорастания даже в отсутствии светового фактора.

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3. В coleoptile отмечается изменение оптической плотности и спектральных характеристик вдоль продольной оси.

Список литературы

- Агроскин Л. С., Папаян, Г. В.* Цитофотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по светопоглощению. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1977. 295 с.
- Бойсен-Иенсен П.* Ростовые гормоны растений. М.; Л.: Наука. 1933. 320 с.
- Гринченко С. Н., Загускин С. Л.* Механизмы живой клетки: алгоритмическая модель. М.: Наука, 1989. 232 с.
- Дадькин В. П., Грушевский Б. Н.* О пропускании света листьями растений при облучении их белым и монохроматическим светом // ДАН СССР. 1961. Т. 141, № 2. С. 495 – 497.
- Дарвин Ч.* Сочинения. Т. 8. Лазящие растения. Движения растений. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1941. 539 с.
- Касаткин М. Ю., Степанов С. А., Прохорова Т. М.* Фоторегуляция прорастания зерновок пшеницы // Изв. Саратов. ун-та. Сер. Химия. Биология. Экология. 2010. Т. 10, № 2. С. 52 – 55.
- Медведев С. С.* Физиология растений. СПб.: БХВ-Петербург, 2012, 512 с.
- Bleiss W., Loudwig M.* Rapid growth responses of dark-grown wheat seedlings to red-light irradiation. II. Kinetic studies on the growth of different coleoptile zones // *Physiol. Plant.* 1990. Vol. 80, № 2. P. 205 – 209.
- Dietz K.-J.* Efficient high light acclimation involves rapid processes at multiple mechanistic levels // *J. Exp. Bot.* 2015. Vol. 66, № 9. P. 2401 – 2414.
- Lange S.* Die Verteilung der Lichtempfindlichkeit in der Spitze der Haferko-
leoptile // *Jahrb. f. Wiss. Bot.* 1927. Bd. 67. S. 1 – 51.
- Vignolini S., Moyroud E., Glover B. J., Steiner U.* Analysing photonic structures in plants // *J. R. Soc. Interface.* 2013. Vol. 10. P. 1 – 9.
- Vogelmann T. C.* Plant tissue optics // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 1993. Vol. 44. P. 231 – 251.