

## СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 633.11:[581.823+581.824]+578.686

### ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНЕЙ КОЛЕОПТИЛЯ И ЭПИКОТИЛЯ ПРИ ПРОРАСТАНИИ ПШЕНИЦЫ

**М. Ю. Касаткин, Н. А. Загнухина, С. А. Степанов**

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

Поступила в редакцию 16.09.2017 г.

**Изменение спектральных характеристик тканей колеоптиля и эпикотили при прорастании пшеницы.** – Касаткин М. Ю., Загнухина Н. А., Степанов С. А. – Цитофотометрическим методом исследовались спектральные характеристики колеоптиля и эпикотили пшеницы. 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. Установлена тканеспецифичность в распределении пигментных систем в исследованных структурах. Методом определения оптических свойств тканей *in vivo* в верхушке колеоптиля подтверждено наличие фитохромной системы регуляции. Делается предположение, что различия в оптической плотности более чем на 30 – 50% в разных частях видимого спектра указывает на наличие активных пигментных систем в тканях. Изменение среднего показателя поглощения на фоне нивелирования различий по участкам спектральной кривой говорит о преобладании вклада структурных перестроек в оптические свойства тканей.

**Ключевые слова:** колеоптиль, эпикотиль, спектральные характеристики, рост, пшеница.

## ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНЕЙ

**Changes in the spectral characteristics of wheat coleoptile and epicotyl tissues during germination.** – Kasatkin M. Y., Zaguhina N. A., Stepanov S. A.

– The spectral characteristics of wheat coleoptile and epicotyl were studied by the cytophotometric method. In the coleoptile, the optical density of the 300- $\mu\text{m}$  section of its apex, parenchyma and conductive bundle in the middle and lower parts was estimated. In the epicotyl, the optical density of the parenchyma of the cortex and the central cylinder in the upper part of the organ was examined. In coleoptile and epicotyl, the presence of several different pigment systems absorbing in the blue and red parts of the visible spectrum and not overlapping in their spectral characteristics was detected. The tissue-specificity in the distribution of pigment systems in the structures studied is established. The method of determining the optical properties of tissues *in vivo* at the top of the coleoptile confirmed the presence of phytochrome regulation system. It is suggested that differences in optical density of more than 30 – 50% in different parts of the visible spectrum indicate the presence of active pigment systems in tissues. The change in the average absorption index against the background of leveling the differences along the sections of the spectral curve indicates the predominance of the contribution of structural rearrangements to the optical properties of tissues.

**Key words:** coleoptile, epicotile, spectral properties, growth, wheat.

DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-4-16-23

Функциональная значимость видимой части электромагнитного спектра для растения в современном понимании определяется тем, что свет является как источником энергии, так и самым быстроменяющимся информативным фактором внешней среды (Dietz, 2015; Vignolini, 2016). Ответная реакция на световое воздействие в большой степени обуславливается оптическими свойствами растительных тканей, зависящими от содержания пигментов и структурных особенностей клеток (Vogelmann, 1993).

Благодаря изменениям ультраструктуры тканей в процессе онтогенеза и развёртыванию пигментных систем оптические параметры растительного организма получают возможность адаптивно подстраиваться с малым временем отклика к меняющимся условиям. Определение спектра поглощения видимой части света тканями, т.е. их спектральной характеристики *in vivo*, представляет интерес с целью идентификации механизмов, регулирующих гомеостаз клеток, тканей и органов растения.

Целью настоящего исследования являлось определение спектральных характеристик тканей колеоптиля и эпикотили путём решения следующих задач: 1) выявить динамику изменения оптических

свойств тканей колеоптиля и эпикотилия; 2) оценить распределение пигментных систем по тканям указанных органов; 3) установить изменение спектральных характеристик тканей по продольной оси колеоптиля.

### Материал и методы

Исследования проводились на кафедре микробиологии и физиологии растений Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. Объектом изучения являлись мягкая пшеница *Triticum aestivum*, жизненная форма яровая, сорт Саратовская 29. Семена проращивались в термостатируемых условиях в вермикулите с глубиной заделки 6 см при 18 °С. Источником освещения являлись люминесцентные лампы белого света с максимальной освещённостью 6000 лк.

Изучение спектральных характеристик в области от 380 до 750 нм проводили согласно методики для цитофотометрических исследований (Агроскин, 1977; Merzlyak, 2005). Источником света служила галогеновая лампа накаливания мощностью 75 Вт. Пучок света большой степени монохроматичности ( $\pm 2$  нм) подавался на микроскоп МББ-1А. Для получения света с узкой длиной волны использовался монохроматор спектрофотометра СРЕКОЛ 11. Интенсивность прошедшего через ткани света определяли с помощью фотоэлектронного умножителя ФЭУ-68 со спектральной чувствительностью, лежащей в области 300 – 820 нм.

Временные препараты растительного материала готовили на ручном микротоме. Толщина среза подбиралась таким образом, чтобы оптическая плотность тканей укладывалась в пределы от 0.2 до 0.8, тем самым уменьшая погрешность измерения (Агроскин, 1977). Для сравнения неодинаковых по толщине срезов все значения оптической плотности пересчитывались на 1000 мкм.

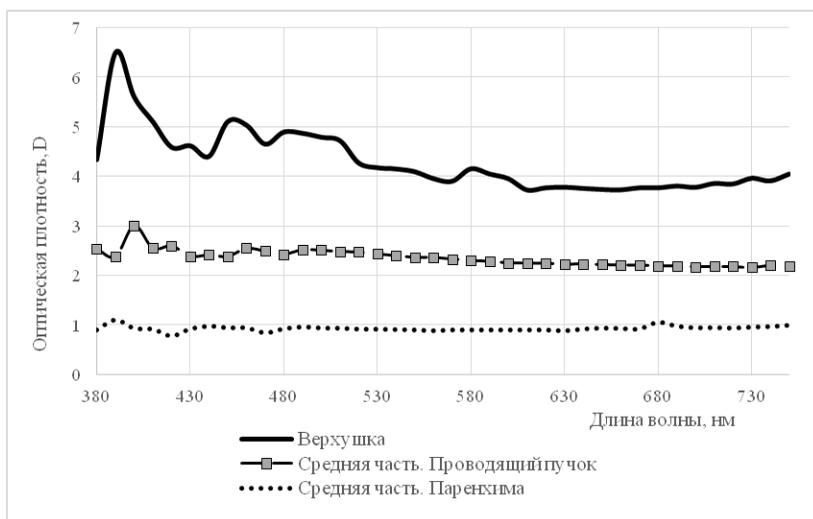
Оптические свойства тканей изучались у колеоптиля и эпикотилия. Рост колеоптиля прекращался с прорывом его первым листом на 9-е сутки с момента замачивания семян. Рост эпикотилия начинался на 6-е сутки с момента начала опыта. В колеоптиле оценивалась оптическая плотность участка в 300 мкм его верхушки,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

## ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНЕЙ

ская плотность паренхимы коры и центрального цилиндра в верхней части органа.

### Результаты и их обсуждение

В верхушке колеоптиля (размер участка ткани примерно 300 мкм) обнаруживается сразу несколько пиков поглощения в синей части спектра (390, 430, 450 480 нм). В жёлто-зелёной области присутствуют максимумы поглощения, соответствующие 490 – 510 и 580 нм; в красной – наблюдалось наличие слабо выраженной области поглощения в районе 730 нм (рис.1).



**Рис. 1.** Оптическая плотность тканей колеоптиля через 2-е суток с момента начала опыта

Сравнение со спектральными характеристиками верхушки этиолированного колеоптиля, описанных ранее (Касаткин и др., 2017), показало сохранение чётко выраженной области поглощения при 450 нм. Вместе с тем, остальные пики поглощения в синей и жёлто-зеленой областях спектра были несколько сдвинуты или не столь ярко выражены. Что касается красной части спектра, нами было обнаружено, став-

шее уже классическим (Физиология растений, 2005), характерное проявление функционирования фитохромной системы: в условиях этиоляции хорошо заметная область поглощения при 660 нм, в условиях освещения – поглощение в области 730 нм. При этом следует отметить и сохранение правила уменьшения концентрации фитохрома на свету – поглощение тканей при 730 нм в условиях освещения было слабо выражено по сравнению с областью 660 нм этиолированных колеоптилей, где наблюдалось заметное увеличение оптической плотности клеток исследованного образца в этом участке спектра.

В средней части колеоптиля, где хорошо выражена паренхима, установлено различие между ней и проводящими пучками по поглощению в видимой части спектра. В частности, паренхимные клетки средней части колеоптиля имеют незначительные максимумы поглощения при 390, 440 и 680 нм, тогда как проводящие пучки обладают единственным чётко выраженным максимумом поглощения при 400 нм и слабо заметным при 470 нм.

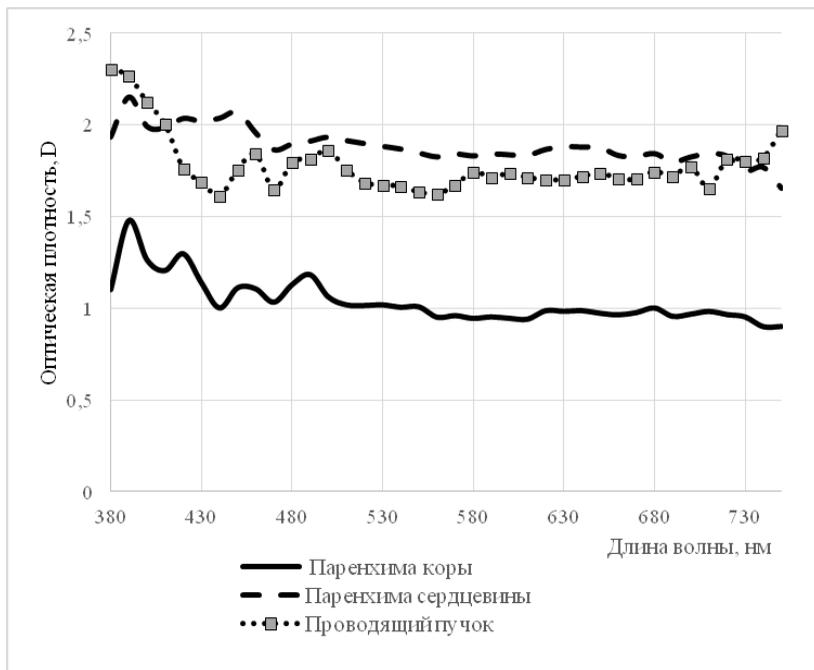
В наших исследованиях развитие эпикотилия наблюдалось на 6-е сутки с момента замачивания семян. В это время колеоптиль продолжал рост и прорывался первым зародышевым листом на 9-е сутки. Оптические свойства тканей эпикотилия в начале развития данной структуры (на 9-е сутки с момента начала опыта) изображены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

По результатам исследований выявлено, что паренхимные клетки коры эпикотилия имеют слабо выраженные участки поглощения при 390, 420, 460, 490 нм. В красной области спектра обнаружена слабая область поглощения в районе 680 нм. Паренхимные клетки сердцевинны эпикотилия также имеют нечеткие области поглощения при 420 и более выраженную при 450 нм. Проводящий пучок заметно поглощает при 460 и 500 нм, менее характерны области поглощения при 580 и 700 нм.

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

Увеличение оптической плотности во всех участках спектра верхушки колеоптиля наблюдается до момента прорыва его первым листом на 9-е сутки после прорастания.

## ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНЕЙ



**Рис. 2.** Оптическая плотность тканей верхней части эпикотила в начале развития (через 9 суток с момента начала опыта)

Максимальные средние значения указанной величины составляют 4.885 для синей, 4.221 для желто-зелёной и 3.775 для красной областей спектра, увеличиваясь с начала опыта от значений 1.740, 0.886 и 0.759 соответственно. После прорыва coleoptила отмечено снижение оптической плотности до 1.311, 1.168 и 0.991. Вместе с этим наблюдается уменьшение различий в оптической плотности по участкам спектра – в начале опыта поглощение в синей области более чем на 50% превышало таковую в красном участке спектра, тогда как в момент прорыва coleoptила первым листом эти различия не превышали 25%. По нашему мнению, это может указывать на активное функционирование пигментных систем верхушки coleoptила в начале прорастания с последующим постепенным снижением их содержания. Косвенным до-

казательством данному тезису может служить показатели оптической плотности нижележащих тканей в базальной части колеоптиля – клеток паренхимы и проводящего пучка, где не отмечено заметного содержания пигментов. Здесь различия по участкам спектра не превышали 10% и колебались вокруг средних значений 0.916 для паренхимы и 2.980 для клеток проводящего пучка.

Средняя оптическая плотность тканей эпикотили также была также тканеспецифичной и изменялась в онтогенезе. Паренхима коры эпикотили в начале активации ростовой активности на 9-е сутки с момента прорастания имеет максимальные значения оптической плотности по всем участкам спектра (1.918 для синей, 1.712 для желто-зелёной и 1.359 для красной). В этот же период отмечены максимальные различия поглощения в разных участках спектра (30%). Дальнейший рост эпикотили приводил к уменьшению оптической плотности до средних значений 0.814 на 14-е сутки с момента начала опыта с повышением поглощения до 1.037 на 17-е сутки. Вместе с этим, отмечается выравнивание оптической плотности по разным областям спектра с разбросом в пределах 10% от средних значений.

Клетки паренхимы сердцевины в исследованный период роста эпикотили повышали средние значения оптической плотности от значения 1.048 в начале до 1.899 в конце опыта. Различия в поглощении света по участкам спектра не превышало 5 – 10% в зависимости от возраста данного органа.

Колебания средних значений оптической плотности проводящих пучков эпикотили наблюдалось от 2.066 в начале до 3.591 в конце опыта. В середине опыта на 14-е сутки отмечено снижение показателя поглощения до 1.230 единиц.

В продольной оси эпикотили (от верхней к нижней его частям) отмечено снижение оптической плотности в указанных участках спектра по всем исследованным тканям. Эта тенденция сохранялась в течении всего опыта.

Таким образом, на основании проведенных исследований выявлено, что эпикотиль и колеоптиль различаются по спектральным характеристикам. По мере роста органов наблюдается изменение как характера спектра поглощения, так и оптической плотности в целом по исследуемым тканям. Различие в поглощении по частям видимого спектра указывает на наличие активных пигментных систем в тканях. Из-

## ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНЕЙ

менение среднего показателя поглощения на фоне нивелирования различий по участкам спектральной кривой говорит о преобладании вклада структурных перестроек в оптические свойства тканей. По оптическим свойствам своих тканей колеоптиль и эпикотиль, несомненно, являются динамической саморазвивающейся системой, как во временной, так и в пространственной системе координат проростка.

### Выводы

1. В колеоптиле и эпикотиле отмечено присутствие пигментов, поглощающих в синей и красной областях спектра.
2. Наибольшая дифференциация сенсорных пигментных систем, изученных по методу определения оптических свойств тканей колеоптиля и эпикотиля *in vivo*, наблюдается в начале онтогенеза каждого органа.
3. В колеоптиле и эпикотиле изменение оптической плотности и спектральных характеристик происходит вдоль продольной оси органа.

### Список литературы

- Агроскин Л. С., Папаян Г. В.* Цитофотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по светопоглощению. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1977. 295 с.
- Касаткин М. Ю., Степанов С. А., Страпко А. М.* Влияние этиоляции на спектральные характеристики тканей колеоптиля и эпикотиля пшеницы // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2017. Т. 15. Вып. 1. С. 50 – 59.
- Физиология растений. М: ИЦ «Академия», 2005. 640 с.
- Dietz K.-J.* Efficient high light acclimation involves rapid processes at multiple mechanistic levels // J. Exp. Bot. 2015. Vol. 66, № 9. P. 2401 – 2414.
- Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., Smagin A. I., Gitelson A. A.* Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment // J. Plant Physiol. 2005. Vol. 162 (2). P. 151 – 160.
- 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.