

Оригинальные статьи / Original articles

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-155-158>
УДК 635.615:631.531

Гулин А.В.,
Донская В.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт орошаемого овощеводства и бахчеводства - филиал Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Прикаспийский аграрный федеральный научный центр Российской академии наук» 416340, Россия, Астраханская область, г. Камызяк, ул. Любича, д. 16
E-mail: donskaya.v@list.ru

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Гулин А.В., Донская В.И. Сравнительная оценка характера воздействия ультрафиолетового излучения на семена арбуза во временном режиме. *Овощи России*. 2019;(6): 155-158. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-155-158>

Поступила в редакцию: 13.09.2019

Принята к печати: 06.11.2019

Опубликована: 25.11.2019

Alexander V. Gulin,
Vera I. Donskaya

All-Russian Research Institute of Irrigated Vegetable and Melon Growing – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Caspian Agrarian Federal Scientific Center of the Russian Academy of Sciences" 16, Lyubich str., Kamyzak, Astrakhan region, Russia, 416340
E-mail: donskaya.v@list.ru

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For citation: Gulin A.V., Donskaya V.I. Comparative assessment of the nature of the impact of ultraviolet radiation on watermelon seeds in time mode. *Vegetable crops of Russia*. 2019;(6): 155-158. (In Russ.). <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-155-158>

Received: 12.04.2019

Accepted for publication: 25.06.2019

Accepted: 25.11.2019

Сравнительная оценка характера воздействия ультрафиолетового излучения на семена арбуза во временном режиме



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Одной из главных составляющих спектра солнечного света являются ультрафиолетовые лучи – невидимое для человеческого глаза коротковолновое излучение. До недавнего времени влияние этих лучей на жизнь растений считалось незначительным, но последние исследования показали ошибочность подобных заключений. Ультрафиолетовое излучение оказывает полезное воздействие не только на организм человека и животных, но и на растения. В настоящее время продолжается разрушение озонового слоя под действием антропогенного фактора. В этой связи изучение влияния ультрафиолетовой радиации на живые организмы, в том числе и растительные, является весьма актуальным как с теоретической, так и с практической точек зрения. Эпидермис листьев растений и оболочка семян проницаемы для средне- и длинноволнового УФ-излучения, поэтому особый интерес представляет ультрафиолетовое излучение Солнца и искусственных источников ультрафиолетового излучения в диапазоне 400...180 нм. Цель работы: провести оценку характера воздействия ультрафиолетового излучения во временном режиме на семена арбуза с применением цитогенетического анализа нового поколения.

Материалы и методы. Материалом для исследований были семена сорта арбуза «Астраханский». Исследования проводили в 2017-2018 годах согласно учебно-методическим пособиям: «Цитогенетические и молекулярно-биологические методы анализа растений», 2014.

Результаты. Результаты исследований показали, что длительное воздействие ультрафиолетового излучения может повлиять на физиологические процессы и анатомическое строение растений, а также иметь серьезные генетические последствия: анеуплоидию, цитотомию, пикноз и различные хромосомные aberrации, которые приводят к мутациям или к гибели растений. Однако при кратковременном воздействии – 0,5-2 часа растения приобретают полезные мутации, которые могут быть использованы в дальнейшем в селекции.

Ключевые слова: ультрафиолетовое излучение, стресс, митотический цикл, хромосомные aberrации, цитотомия, пикноз, повреждение тканей, кросс-устойчивость, кросс-адаптация, полиплоидия.

Comparative assessment of the nature of the impact of ultraviolet radiation on watermelon seeds in time mode

ABSTRACT

Relevance. One of the main components of the spectrum of sunlight is ultraviolet rays – invisible to the human eye short-wave radiation. The influence of these rays on plant life was considered insignificant until recently, but recent studies have shown the fallacy of such conclusions. Ultraviolet has a beneficial effect not only on the human body and animals, but also on plants, including – crops. The destruction of the ozone layer is currently continuing under the influence of anthropogenic factors. In this regard, the study of the effect of ultraviolet radiation on living organisms, including plants, is very relevant from both theoretical and practical points of view. The epidermis of plant leaves and seed shells are permeable to medium- and long-wave UV radiation, so of particular interest is the ultraviolet radiation of the Sun and artificial sources of ultraviolet radiation in the range of 400...180 nm.

Purpose of work: to assess the nature of the impact of ultraviolet radiation in the time mode on watermelon seeds using cytogenetic analysis.

Methods. The material for research was the seeds of the watermelon variety "Astrakhan". The studies were conducted in 2017-2018.

Results. The results of studies have shown that long-term exposure to ultraviolet radiation can affect the physiological processes and anatomical structure of plants, as well as have serious genetic changes: aneuploidy, cytotomy, pyknosis and various chromosomal aberrations that lead to mutations or death of plants. However, plants acquire useful mutations with short-term exposure-0.5-2 hours, which can be used later in selection.

Keywords: ultraviolet light, stress, mitotic cycle, chromosomal aberrations, cytotomy, pyknosis, tissue damage, cross-resistance, cross-adaptation, polyploidy.

Введение

Одной из главных составляющих спектра солнечного света являются ультрафиолетовые лучи – невидимое для человеческого глаза коротковолновое излучение. До недавнего времени влияние этих лучей на жизнь растений считалось незначительным, но последние исследования показали ошибочность подобных заключений. Ультрафиолетовое излучение оказывает полезное воздействие не только на организм человека и животных, способствуя выработке витамина D, но и на растения, в том числе – сельскохозяйственные культуры [4].

Ультрафиолетовое излучение принято разделять на три составные части, различающиеся по длине волны. Наиболее коротковолновые лучи оказывают губительное действие на растения. Даже в небольших дозах они вызывают разрушение белка в клетках листьев, с последующим их отмиранием. К счастью для живых организмов на Земле, данная часть солнечной радиации до поверхности планеты практически не доходит, на его пути непреодолимым препятствием встает озоновый слой атмосферы. Лучи средней длины волны, составляющие 10-12% от общего ультрафиолетового спектра, проявляют полезное воздействие на растения. Но их воздействие более выражено в гористой местности планеты. Длинноволновое ультрафиолетовое излучение представляет наибольший интерес для аграриев, оно составляет около 20% от общего количества ультрафиолетовых лучей и оказывает наибольшее воздействие на флору планеты. Такое излучение легко проникает сквозь защитный покров листьев и оказывает активное влияние на жизненный цикл растений, усиливает интенсивность фотосинтетических процессов, способствует выработке хлорофилла и накоплению витаминов. Фотохимические реакции под действием ультрафиолетовых лучей проходят максимально интенсивно. Энергия фотонов ультрафиолетового света довольно таки велика, а при их поглощении молекула ионизируется и распадается на части. Периодически фотон выбивает электрон за пределы атома. Чаще всего происходит возбуждение атомов и молекул [1].

Благодаря прикреплённому образу жизни растения часто подвергаются стрессовым воздействиям. Это требует комплексной и высокоупорядоченной системы ответных реакций на такие факторы как избыточная или недостаточная освещённость, жара, холод, гипоксия, засуха, повреждения.

Растения способны очень быстро реагировать на сигналы,

поступающие из окружающей среды, и, адаптируясь к ним, корректировать программу своего развития.

Растения очень часто подвергаются стрессовым воздействиям в естественных условиях. Некоторые стрессовые факторы, например, высокая или низкая температура воздуха, могут действовать в течение нескольких часов, другие - оказывают на растение неблагоприятное влияние в течение нескольких дней, недель, или месяцев. Именно устойчивость к неблагоприятным условиям среды определяет границы ареалы и характер распределения различных видов растений по климатическим зонам [3].

В настоящее время продолжается разрушение озонового слоя под действием антропогенного фактора. В этой связи изучение влияния ультрафиолетовой радиации на живые организмы, в том числе и растительные, является весьма актуальным как с теоретической, так и с практической точек зрения.

Эпидермис листьев растений и оболочки семян проницаемы для средне- и длинноволнового УФ-излучения [2], поэтому для нас представляют интерес ультрафиолетовое излучение Солнца и искусственных источников ультрафиолетового излучения в диапазоне 400...180 нм. Для проведения опыта мы использовали прямую ртутно-кварцевую лампу ПРК (ДРТ—дуговые ртутно-кварцевые лампы), которая является мощным источником излучения в ультрафиолетовых областях А, В, С и видимой части спектра.

Цель работы: провести оценку характера воздействия ультрафиолета во временном режиме на семена арбуза с применением цитогенетического анализа.

Научная новизна: впервые проведена оценка воздействия ультрафиолета на семенной материал арбуза с целью получения полиплоидных форм для их дальнейшего использования в селекции и семеноводстве.

Материалы и методы: материалом для исследований были семена сорта арбуза Астраханский. Исследования проводили в 2017-2018 годах согласно учебно-методических пособий: «Цитогенетические и молекулярно-биологические методы анализа растений», 2014 [6].

Схема опыта:

- Вариант 1 (контроль) – без облучения.
- Вариант 2 –УФ-облучение в течение 0,5 часа.
- Вариант 3 –УФ-облучение в течение 1 часа.
- Вариант 4 –УФ-облучение в течение 2 часов.
- Вариант 5 –УФ-облучение в течение 3 часов.

Таблица 1. Влияние ультрафиолетового излучения на энергию прорастания семян
Table 1. Effect of ultraviolet radiation on seed germination energy

| Варианты | Дата облучения и посева | Дата появления проростков | Число дней от посева семян до массовых всходов |
|----------------------|-------------------------|---------------------------|--|
| Вариант 1 (контроль) | 21.02 | 28.02 | 7 |
| Вариант 2 | 21.02 | 25.02 | 4 |
| Вариант 3 | 21.02 | 25.02 | 4 |
| Вариант 4 | 21.02 | 02.03 | 9 |
| Вариант 5 | 21.02 | 05.03 | 12 |

Таблица 2. Число проросших семян после облучения ультрафиолетом
(из расчёта 30 штук по каждому варианту), средние данные за 2017-2018 годы
Table 2. The number of germinated seeds after irradiation with ultraviolet light
(at the rate of 30 pieces for each option), the average data for 2017-2018.

| Варианты | Обработка | Учёт (25.02-02.03) | Учёт (02.03-10.03) | Учёт (10.03-17.03) | Учёт (17.03-25.03) | Соотношение от общего количества, % |
|----------------------|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------------|
| Вариант 1 (контроль) | 21.02 | 7 | 30 | 30 | 30 | 100 |
| Вариант 2 | 21.02 | 10 | 25 | 27 | 30 | 100 |
| Вариант 3 | 21.02 | 11 | 20 | 25 | 27 | 97 |
| Вариант 4 | 21.02 | 1 | 12 | 15 | 23 | 80 |
| Вариант 5 | 21.02 | 0 | 5 | 12 | 19 | 65 |

Таблица 3. Нарушения в клетках зародышей, % (средние данные за 2017-2018 годы)
Table 3. Disorders in embryonic cells, % (average data for 2017-2018)

| Варианты | Нарушение метафазы | Нарушение анафазы | Наличие хромосомных aberrаций | Нарушение цитотомии | Атипичические митозы | Пикноз |
|----------------------|--------------------|-------------------|-------------------------------|---------------------|----------------------|--------|
| Вариант 1 (контроль) | - | - | - | - | - | - |
| Вариант 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Вариант 3 | 0 | 10 | 5 | 2 | 5 | 5 |
| Вариант 4 | 12 | 15 | 20 | 10 | 20 | 20 |
| Вариант 5 | 20 | 30 | 40 | 25 | 37 | 37 |

Результаты исследований

В первую очередь при проведении исследований была проведена оценка влияния ультрафиолетового воздействия на посевные качества семян (табл. 1).

По данным таблицы 1 видно, что ультрафиолетовое облучение не оказало существенного негативного влияния на энергию прорастания семян. При небольшом временном воздействии – 0,5-1 часа ультрафиолетовые лучи оказали даже стимулирующий эффект на биологические и физиологические процессы зародышей и проростки появились раньше контроля на 3 дня.

Это, несомненно, подтверждает явление гормезиса. Более длительное воздействие затормозило всхожесть, что видимо, связано с перенесённым стрессом после облучения. Однако зародыши в семенах восстановились, и их клетки смогли синхронизировать митоз.

Помимо этого, проведен подсчёт соотношения проросших семян к семенам, которые по каким-либо причинам не взошли (табл. 2). По данным таблицы можно сделать вывод, что существенное влияние на прорастание семян ультрафиолетовое излучение оказало в вариантах 4 и 5, что, конечно же, подтверждает его пагубное влияние при длительном воздействии.

Самая чувствительная к действию ультрафиолетовых лучей функция клетки – это деление. Облучение в дозе 10(-19) Дж/м² вызывает остановку деления около 90% клеток, но рост и жизнедеятельность клеток при этом не прекращаются. Со временем восстанавливается их деление. Чтобы вызвать гибель 90% клеток, подавление синтеза нуклеиновых кислот и белков, образование мутаций, необходимо довести дозу облучения до 10(-18) Дж/м². Ультрафиолетовые лучи вызывают в нуклеиновых кислотах изменения, которые влияют на рост, деление, наследствен-

ность клеток, т.е. на основные проявления жизнедеятельности [5]. Поэтому для выявления каких-либо изменений мы провели цитогенетический анализ не проросших семян и корешков зародышей семян, которые проросли (табл. 3).

При детальном анализе нами была обнаружена интерфазная или репродуктивная гибель клеток зародыша, которые мы связываем непосредственно с атипичическим течением митоза при делении клеток. Атипичические митозы возникали при повреждении митотического аппарата и чаще всего характеризовались пикнозами и неравномерным распределением генетического материала между клетками – анеуплоидией. Во многих случаях цитотомия отсутствовала, в результате чего формировались клетки большего размера. Также причинами нарушения нормального митоза являлись хромосомные aberrации, такие как слипание, разрыв и выпадение участка хромосом, не исключаем и обмен фрагментами. Помимо этого, гибель зародыша мы связываем и с нарушением проницаемости и изменением ядерных мембран и цитоплазмы клеток, а также с разрушением после облучения клеточных белков. Однако есть вероятность, что многие зародыши смогли преодолеть стресс облучения и синхронизировать митоз.

Излучение вызывает не только ранние (острые) повреждения клеток и тканей, но являются также причиной отдалённых, или поздних, эффектов. Последние включают генетические, тератогенные и канцерогенные эффекты.

Острые эффекты проявляются в течение первых суток или недель после облучения в быстро профилирующих популяциях клеток. Наиболее чувствительна к облучению первая стадия митоза – поздняя профазы. Клетки, которые в момент облучения оказываются в этой стадии, не могут вступить в митоз, что проявляется первичным снижением митотической активности спустя 2 часа после облучения. Клетки же, облученные в более поздних стадиях или завершают цикл деле-

Таблица 4. Нарушения в клетках корней, % (средние данные за 2017-2018 годы)
Table 4. Disorders in root cells, % (average data for 2017-2018)

| | | | | | | |
|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Вариант 1 (контроль) | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вариант 2 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Вариант 3 | 15 | 20 | 5 | 15 | 0 | 3 |
| Вариант 4 | 25 | 35 | 10 | 25 | 5 | 5 |
| Вариант 5 | 35 | 39 | 15 | 35 | 15 | 15 |

**Таблица 5. Нарушения в клетках вегетативных частей растений, %
(средние данные за 2017-2018 годы)**
Table 5. Disorders in cells of vegetative parts of plants, % (average data for 2017-2018)

| Варианты | Нарушение анафазы | Наличие хромосомных aberrаций | Нарушение цитотомии | Атипичические митозы | Повреждение тканей | Полиплоидия |
|----------------------|-------------------|-------------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|-------------|
| Вариант 1 (контроль) | - | - | - | - | - | - |
| Вариант 2 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Вариант 3 | 3 | 5 | 5 | 3 | 3 | 5 |
| Вариант 4 | 10 | 25 | 7 | 5 | 10 | 10 |
| Вариант 5 | 20 | 30 | 10 | 7 | 15 | 20 |

ния без каких-либо нарушений, или в результате инверсии обменных процессов возвращаются в профазу. Это и есть радиационная синхронизация митозов, когда клетки с запозданием снова начинают делиться и производят чисто внешнюю компенсацию первоначального снижения митотической активности. Такую картину мы и наблюдали при цитогенетическом анализе клеток корней и вегетативных частей растений (табл. 4, 5).

При визуальном осмотре корней в некоторых случаях при длительном облучении, прежде всего, отметили такие нарушения как утолщение, уродливость и повреждение тканей. Также семенная кожура при таких изменениях имела точечные ожоги, что было обнаружено и в случае с не проросшими семенами. В результате генетического анализа были выявлены чаще всего атипичические митозы, связанные с повреждением белков митотического аппарата, что препятствовало правильному расхождению хромосом в анафазе. Помимо этого, зафиксированы различные хромосомные aberrации: потеря частей хромосом и их слипание. В некоторых случаях пикноз, нарушение цитотомии и полиплоидия. В уплотнённых тканях корней выявлены многочисленные клетки намного большего размера, похожие на опухолевые.

Также и растения, выращенные из облучённых семян, имели разные физиологические и анатомические нарушения. Особенно это было заметно в вариантах 4 и 5. Многие из них были низкорослыми с мелкими листьями. Цвет листьев варьировал от светло-зелёного до тёмно-зелёных оттенков. В пятом варианте опыта 12 образцов из 19 так и не смогли войти в фазу первого настоящего листа, в четвёртом варианте таких растений оказалось 11.

В большинстве случаев у таких образцов семядоли были или деформированы, или обуглены по краям и имели неестественный жёлтый цвет.

Стебли были разной длины – от коротких до очень длинных. Данные растения не смогли образовать ни одного настоящего листа и вскоре погибли. При их удалении мы

отметили ещё одну особенность – у некоторых из них так и не образовалась нормальная корневая система. В ходе микроскопического анализа у всех вариантов были отмечены и другие нарушения генетического характера. В большинстве своём это атипичические митозы с нарушением анафазы и метафазы, практически полное отсутствие веретена деления, множественные фрагменты хромосом, их слипание, удвоение отдельных участков, а возможно и их обмен. Также обнаружено нарушение цитотомии и полиплоидия. Полностью полиплоидными были растения в пятом варианте (3 шт.).

Заключение

В результате проведённых нами исследований можно прийти к выводу, что длительное воздействие ультрафиолетового излучения может повлиять на физиологические процессы и анатомическое строение растений: пигментацию, рост, развитие, обмен веществ, повреждение тканей, разрушение мембран клеток и ядер. Более серьёзными изменениями нужно считать генетические – нарушения в митотическом цикле: анеуплоидия, цитотомия, пикноз и различные хромосомные aberrации. Так как не все растения имели подобные изменения, то можно говорить о явлении кросс-устойчивости или кросс-адаптации, но мы не знаем, к чему приведёт данная адаптация и насколько долго она может сохраняться. Однако можно сделать однозначное заключение, что растения даже одного вида по-разному реагируют на увеличение и длительность потока ультрафиолетового излучения. Это, в свою очередь, может привести к нарушению баланса различных видов внутри одного сообщества растений, что представляет серьёзную опасность, как для сельского хозяйства, так и для естественных экосистем. Однако при кратковременном воздействии (в течение 0,5-2 час) растения приобретают мутации, например, такие как полиплоидия, которые могут быть использованы в дальнейшем в селекции.

Об авторах:

Гулин Александр Владимирович – кандидат с.-х. наук, директор
Донская Вера Ивановна – кандидат с.-х. наук, ведущий научный сотрудник

About the authors:

Alexander V. Gulin – Cand. Sci. (Agriculture), Director
Vera I. Donskaya – Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher

Литература

1. Акназаров О.А. Спектральный состав света как фактор изменения физиологического состояния и продуктивности растений. Отд. биол. и мед. наук. М.: Изд-во: АН Таджикистан ССР, 1988;3(112).
2. Акназаров О.А., Одилбеков К. Влияние предпосевной обработки семян УФ-лучами разной длины волны на ростовые процессы, уровень гормонов и продуктивность растений // Доклады академии наук республики Таджикистан. 2007;50(2).
3. Веселовский В.А. Стресс растений. Биофизический подход. М., Изд-во: МГУ, 1993. 144 с.
4. Жимулёв И.Ф. Генетика. Учебник. Новосибирск, 2007.
5. Дубров А.П. Действие ультрафиолетовой радиации на растения // АН СССР, Ин-т общей генетики, М., Изд-во: Наука, 1968. 250 с.
6. Кондратенко Е.И., Ломтева Н.А., и др. Цитогенетические и молекулярно-биологические методы анализа растений. Астрахань, Изд-во АГУ. 2014.

References

1. Aknazarov O. A. Spectral composition of light as a factor of changes in the physiological state and productivity of plants. Biol. and med. sciences. Moscow: Publishing house: Academy of Sciences of the Tajikistan SSR. 1988;3(112). (In Russ.)
2. Aknazarov O.A., Odilbekov K. Influence of pre-sowing treatment of seeds with UV rays of different wavelengths on growth processes, hormone levels and plant productivity. Reports of the Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan. 2007;50(2). (In Russ.)
3. Veselovsky V.A. Stress of plants. Biophysical approach. Moscow, Publishing house: Moscow state University. 1993. 144 p. (In Russ.)
4. Zhimulev I.F. Genetics. Textbook. Novosibirsk, 2007. (In Russ.)
5. Dubrov A.P. Effect of ultraviolet radiation on plant. USSR Academy of Sciences, Institute of General genetics, Moscow, Publishing house: Nauka, 1968.250 p. (In Russ.)
6. Kondratenko E.I., Lomteva N.A., et al. Cytogenetic and molecular biological methods of plant analysis. Astrakhan, 2014. (In Russ.)