

ЮХАН КАЛАМ, МЕЙДА МАЙЕР, ЛИЛИАН ИССАКО, ТОЙВО ОРАВ

ВЛИЯНИЕ НАМАЧИВАНИЯ ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ, КОНСКИХ БОБОВ И КУКУРУЗЫ В РАСТВОРЕ $BaCl_2$ И ВЫТЯЖКЕ ИЗ СЕМЯН ГОРЧИЦЫ НА ЭФФЕКТ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ

Радиочувствительность семян определяется многими факторами. Главенствующую роль играют генетические факторы, реализация которых зависит в значительной мере как от физиологического состояния семян (условий их созревания, содержания в них воды и т. д.), так и от условий во время и после облучения, условий прорастания семян и т. д.

Одним из условий, позволяющих модифицировать эффект облучения, является пострадиационная обработка семян в вытяжках из семян крестоцветных (Bowen, Thick, 1960; Сорокина и др., 1964; Авраменко, 1967; Березина, 1968; Майер, 1970, 1971).

Модифицирующее действие на эффекты облучения оказывает также пред- и пострадиационная обработка семян растворами микроэлементов (Власюк и др., 1966; Школьник, 1969; Кузин, Газиев, 1969), о возможности практического применения которых писал уже А. Голландер (Hollaender, 1957). Он показал также, что при введении в семена солей железа, марганца, никеля, кобальта, натрия, калия и стронция перед гамма-облучением наблюдается их существенный защитный эффект. Защитное действие наблюдалось и в наших опытах с семенами ячменя, предварительно обогащенными барием, магнием, марганцем и цинком, при дозах гамма-облучения 12 и 16 кр, где в качестве критерия применялись ана- и телофазные aberrации (Орав и др., 1972; Калам, 1971a). Особенно четко защитное действие в этих опытах проявилось при введении первых двух металлов. Наоборот, обогащенные медью семена показали значительно большее количество aberrаций, чем контрольные (необогащенные) при тех же дозах облучения. Аналогичные опыты были проведены с намачиванием облученных семян ячменя в растворах $CuSO_4$, $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $FeSO_4$ и $MnSO_4$. Было показано действие всех растворов определенных концентраций как на частоту, так и на спектр хлорофильных мутаций (Калам, 1970; 1971b).

При постановке нижеописанных опытов нас интересовал вопрос: будет ли водная вытяжка из семян горчицы и раствор $BaCl_2$ влиять на физиологические эффекты гамма-облучения у ячменя, конских бобов и кукурузы?

Материал и методика

Чтобы результаты не зависели от видовой специфичности объекта, опыты проводились с семенами трех видов — ярового ячменя ('Домен'), конских бобов ('Йыгева') и кукурузы ('Стерлинг'). Дозы облучения (для каждой культуры четыре и необлучен-

ный контроль) подбирались с таким расчетом, чтобы самая высокая доза была несколько ниже ЛД₁₀₀, которая для данных сортов была у ячменя — 20 кр, конских бобов — 12 кр и кукурузы — 30 кр. Облучение проводилось дозами: для ячменя — 0, 4, 8, 12 и 16 кр, для конских бобов — 0, 2, 4, 6 и 8 кр, для кукурузы — 0, 6, 12, 18 и 24 кр. Использована установка Луч-1 Института экспериментальной биологии АН ЭССР (мощность 390 р/мин). Облученные и необлученные семена ячменя, конских бобов и кукурузы намачивались в водной вытяжке из семян горчицы (сорт 'Раннеспелая', концентрация вытяжки 1 г молотых семян в 100 мл дистиллированной воды) или в растворе BaCl₂ (концентрация 3 мМ) в течение 24 ч. Контролем служили замоченные в течение 24 ч в дистиллированной воде семена. Раствор во всех случаях брали по весу в десять раз больше, чем семян.

Облученные и замоченные семена высевались в восьми повторностях (по 25 семян в каждой) в цветочные горшки высотой 20 и шириной 15 см, заполненные стерильным, просеянным через 1-миллиметровое сито песком (влажность песка 60%). Дальнейшие процедуры проводились согласно ГОСТу 12040—66. Растения выращивались под установками искусственного освещения при температуре 20 °С. Проростки ячменя были срезаны до уровня песка на 10-й день выращивания, проростки конских бобов — на 13-й, кукурузы — на 14-й день.

В опытах определялись: динамика прорастания, процент всходов, средняя длина проростков, вес 100 проростков, содержание хлорофилла (Годнев, 1963), отношение содержания хлорофилла *a* к содержанию хлорофилла *b*, активность аскорбиноксидазы (Поволоцкая, Седенко, 1955). Кроме того, определялись корреляции между дозой облучения и отношением содержания хлорофиллов *a* : *b*, между дозой облучения и активностью аскорбиноксидазы, между отношением содержания хлорофиллов *a* : *b* и активностью аскорбиноксидазы.

Результаты и обсуждение

Результаты опытов, где объектом служил ячмень, приведены в табл. 1. Они показывают, что обработка раствором BaCl₂ не влияет на всхожесть семян ячменя. При обработке вытяжкой из семян горчицы наблюдается повышение всхожести семян, особенно существенное при дозе 8 кр (+10%, $P < 0,05$). Обработка раствором BaCl₂ на длину проростков и вес 100 проростков существенно не влияет. При обработке вытяжкой из семян горчицы наблюдается тенденция к повышению как средней длины проростков, так и веса 100 проростков при всех дозах облучения (существенное повышение при 8 кр). Содержание хлорофилла уменьшается с увеличением дозы, за исключением варианта, где после облучения дозой 4 кр семена обрабатывались вытяжкой из семян горчицы (в этом варианте наблюдалась тенденция к повышению содержания хлорофилла, но разница не существенна). Отношение содержания хлорофиллов *a* и *b* повышается во всех вариантах с увеличением дозы облучения. Это показывает, что при общем снижении содержания хлорофилла быстрее уменьшается содержание хлорофилла *b*. Активность аскорбиноксидазы повышается с увеличением дозы облучения во всех вариантах. Следует отметить, что в вариантах с пострadiационной обработкой BaCl₂ и вытяжкой из семян горчицы при высоких дозах облучения (≥ 8 кр) активность аскорбиноксидазы гораздо выше, чем в необработанных вариантах при таких же дозах. Данные табл. 4 показывают, что между дозой облучения и активностью аскорбиноксидазы существует положительная корреляция. Положительна она и между дозой облучения и отношением содержания хлорофиллов *a* : *b*, а также между активностью аскорбиноксидазы и отношением содержания хлорофиллов *a* : *b*.

Таблица 1

Влияние раствора $BaCl_2$ и вытяжки из семян горчицы на некоторые показатели у ячменя

Доза, кр	Пострадиационная обработка	Всхожесть семян, %	Длина проростков, см	Вес 100 проростков, г	Отношение содержания хлорофиллов $a : b$	Активность аскорбин-оксидазы, мг/г
0	H_2O	92	13,5	10,2	2,57	7,0
	$BaCl_2$	92	12,6	9,4	2,56	7,3
	Горчица	94	13,3	9,6	2,60	8,1
4	H_2O	84	10,5	8,5	2,79	11,0
	$BaCl_2$	86	9,8	8,2	2,56	9,7
	Горчица	90	10,8	8,8	2,88	12,3
8	H_2O	80	6,2	4,5	2,85	11,9
	$BaCl_2$	82	6,5	5,0	2,69	14,7
	Горчица	<u>90</u>	<u>7,4</u>	<u>6,8</u>	2,90	<u>17,2</u>
12	H_2O	74	5,0	4,3	3,00	12,8
	$BaCl_2$	72	4,7	3,7	2,75	24,3
	Горчица	75	5,4	4,5	2,96	<u>20,3</u>
16	H_2O	54	3,3	3,5	3,17	18,7
	$BaCl_2$	56	3,6	2,8	2,76	39,2
	Горчица	56	3,5	2,6	3,04	<u>26,1</u>

Примечание. В табл. 1—3 в значениях, подчеркнутых одно- и двукратно, разности по сравнению с контролем достоверны по уровню вероятности соответственно $P < 0,05$ и $P < 0,01$.

Таблица 2

Влияние раствора $BaCl_2$ и вытяжки из семян горчицы на некоторые показатели у конских бобов

Доза, кр	Пострадиационная обработка	Всхожесть семян, %	Длина проростков, см	Вес 100 проростков, г	Отношение содержания хлорофиллов $a : b$	Активность аскорбин-оксидазы, мг/г
0	H_2O	93	9,4	78,2	3,04	20,3
	$BaCl_2$	92	9,1	77,8	2,98	<u>12,0</u>
	Горчица	94	9,0	78,4	3,09	<u>16,5</u>
2	H_2O	80	8,1	67,6	3,23	12,7
	$BaCl_2$	79	8,3	70,4	3,26	9,6
	Горчица	<u>89</u>	<u>9,1</u>	<u>75,2</u>	3,29	12,0
4	H_2O	66	5,7	38,4	3,19	23,7
	$BaCl_2$	64	6,0	40,8	3,17	<u>16,8</u>
	Горчица	<u>78</u>	<u>7,3</u>	<u>58,1</u>	3,21	17,9
6	H_2O	51	4,5	30,4	3,17	25,8
	$BaCl_2$	50	4,3	30,3	3,07	29,9
	Горчица	57	5,4	36,1	3,09	24,4
8	H_2O	21	2,3	15,8	3,00	27,2
	$BaCl_2$	19	2,7	20,1	3,01	<u>35,1</u>
	Горчица	22	4,0	23,1	3,05	<u>34,8</u>

Результаты опытов с конскими бобами, которые приведены в табл. 2, показывают, что пострадиационная обработка вытяжкой из семян горчицы повышает всхожесть семян конских бобов при всех дозах облучения, причем наиболее существенно при дозах 2 кр (всхожесть повышается на 9%, $P < 0,05$) и 4 кр (+12%, $P < 0,01$, по сравнению с облученными той же дозой и замоченными в дистиллированной воде семенами). Обработка раствором $BaCl_2$ существенно не влияет на всхожесть семян. Обработка необлученных семян конских бобов вытяжкой из семян горчицы или раствором $BaCl_2$ на их всхожесть не влияет.

Таблица 3

Влияние раствора $BaCl_2$ и вытяжки из семян горчицы на некоторые показатели у кукурузы

Доза, кр	Пострадиационная обработка	Всхожесть семян, %	Длина проростков, см	Вес 100 проростков, г	Отношение содержания хлорофиллов $a : b$	Активность аскорбиноксидазы, мг/г
0	H ₂ O	87	12,3	31,7	3,15	12,6
	BaCl ₂	90	12,6	34,7	3,23	6,7
	Горчица	88	12,2	32,8	3,18	7,0
6	H ₂ O	80	9,1	22,5	3,19	9,5
	BaCl ₂	70	8,8	20,7	3,26	2,5
	Горчица	88	10,3	29,4	3,20	5,3
12	H ₂ O	74	5,9	15,3	3,09	11,2
	BaCl ₂	52	3,8	8,7	3,11	10,9
	Горчица	74	6,3	16,2	3,18	11,2
18	H ₂ O	64	2,9	6,8	3,05	16,5
	BaCl ₂	52	3,0	6,9	2,85	16,5
	Горчица	72	4,3	8,9	3,11	14,7
24	H ₂ O	40	2,1	4,1	2,94	20,3
	BaCl ₂	30	1,3	3,5	2,77	24,5
	Горчица	36	2,0	4,0	2,86	22,4

То же наблюдается и в значениях средней длины проростков и веса 100 проростков. Вытяжка из семян горчицы повышает среднюю длину проростков при дозе 2 кр на 1,0 см ($P < 0,05$) и вес 100 проростков — на 7,6 г ($P < 0,05$), при дозе 4 кр соответственно на 1,6 см ($P < 0,01$) и на 19,7 г ($P < 0,01$). Обработка раствором $BaCl_2$ на значения этих показателей существенно не влияет.

Пострадиационная обработка вытяжкой из семян горчицы и раствором $BaCl_2$ не имеет существенного влияния на показатели отношений содержания хлорофиллов $a : b$. Из табл. 4 видно, что между дозой облучения и активностью аскорбиноксидазы существует положительная корреляционная связь.

Результаты опытов на кукурузе, приведенные в табл. 3, показывают, что пострадиационная обработка раствором $BaCl_2$ уменьшает всхожесть семян кукурузы при всех дозах облучения — при 6 кр на 10% ($P < 0,05$), при 12 кр на 22 ($P < 0,01$), при 18 кр на 12 ($P < 0,01$), при 24 кр на 10% ($P < 0,05$). При обработке вытяжкой из семян горчицы наблюдается тенденция повышения всхожести семян кукурузы, повышение существенно при дозах 6 и 18 кр (+8%, $P < 0,05$). Значения средней длины проростков и веса 100 проростков уменьшаются с увеличе-

Таблица 4

Корреляционные коэффициенты между дозой облучения, активностью аскорбиноксидазы и отношением содержания хлорофиллов $a : b$

	Вид	Обработка	Доза облучения	Отношение содержания хлорофиллов $a : b$
Активность аскорбин-оксидазы	Ячмень	H ₂ O	0,95	0,98
		BaCl ₂	0,95	0,92
		Горчица	0,99	0,87
	Конские бобы	H ₂ O	0,74	-0,60
		BaCl ₂	0,94	-0,36
		Горчица	0,88	-0,98
Кукуруза	H ₂ O	0,81	-0,96	
	BaCl ₂	0,91	-0,99	
	Горчица	0,93	-0,94	
Отношение содержания хлорофиллов $a : b$	Ячмень	H ₂ O	0,99	Примечание. $r = 0,87 - 0,95$ $P < 0,05$ $r \geq 0,96$ $P < 0,01$
		BaCl ₂	0,93	
		Горчица	0,92	
	Конские бобы	H ₂ O	-0,22	
		BaCl ₂	-0,04	
		Горчица	-0,69	
Кукуруза	H ₂ O	-0,96		
	BaCl ₂	-0,96		
	Горчица	-0,83		

нием дозы облучения. При обработке вытяжкой из семян горчицы при дозе 6 кр средняя длина проростков увеличивается на 1,2 см ($P < 0,05$) и вес 100 проростков на 6,9 г ($P < 0,05$) (по сравнению с облученными той же дозой и замоченными в дистиллированной воде семенами). Обработка раствором BaCl₂ семян кукурузы при дозе 12 кр уменьшает длину проростков на 2,1 см ($P < 0,01$) и вес 100 проростков на 6,4 г ($P < 0,05$). Уменьшение длины проростков и веса 100 проростков наблюдается при всех дозах облучения под влиянием раствора BaCl₂, но уменьшение это незначительно. Интересно также отметить, что между активностью аскорбиноксидазы и отношением содержания хлорофиллов $a : b$ существует корреляционная связь на весьма высоком уровне значимости (табл. 4).

Заключение

Исходя из приведенных выше результатов, можно заключить, что намачивание облученных семян ячменя, конских бобов и кукурузы в растворе BaCl₂ и вытяжке из семян горчицы влияет на пострadiaционные физиологические процессы. При этом наблюдается терапевтическое действие (особенно у ячменя и конских бобов). Между дозой облучения и активностью аскорбиноксидазы в проростках ячменя, конских бобов и кукурузы существует положительная корреляционная связь.

ЛИТЕРАТУРА

- Авраменко Б. И., 1967. Радиорезистентность растений и семян семейства *Cruciferae* L. Автореф. канд. дисс. Минск.
- Березина Н. М., 1968. Биохимические основы различий в радиочувствительности растений. Всесоюзная научная конференция по применению изотопов и излучений в сельском хозяйстве (20—24 июня 1967). М. : 5—6.
- Власюк П. А., Гродзинский Д. М., Гудков И. Н., 1966. Ионы тяжелых металлов как радиопротекторы при лучевом поражении растений. Радиобиология 6 (4) : 591—597.
- Годнев Т. Н., 1963. Хлорофилл, его строение и образование в растении. Минск.
- Калам Ю. И., 1970. О классификации хлорофильных мутаций ячменя. Изв. АН Эст. ССР. Биол. 19 (2) : 172—177.
- Калам Ю. И., 1971а. Сравнение цитогенетических эффектов при изменении содержания двухвалентных металлов в семенах ячменя до и после облучения. В сб.: Индуцированный мутагенез у растений. Таллин (в печати).
- Калам Ю. И., 1971б. О возможности применения метода корреляционных плеяд в радиобиологических исследованиях. Изв. АН Эст. ССР. Биол. 20 (1) : 66—69.
- Кузин А. М., Газиев А. И., 1969. Антирадикальная активность тканей и радиочувствительность. Докл. АН СССР. Биол. 184 (1) : 221—224.
- Майер М. Я.-Р., 1970. Влияние намачивания облученных семян конских бобов в вытяжках из семян крестоцветных и в растворе сланцевого ростового вещества на некоторые физиологические и биохимические показатели. Материалы I Всесоюзного симпозиума по радиобиологии растительного организма (12—16 мая 1970 г.). Киев : 156—157.
- Майер М. Я.-Р., 1971. О модифицирующем действии водных вытяжек из семян крестоцветных на физиологические эффекты гамма-облучения у *Vicia faba* L. Радиобиология 11 (1) : 155.
- Орав Т. А., Шаагин-Березовский Г. Н., Орав И. С., 1972. Радиационный мутагенез и модифицирующие его условия. Таллин (в печати).
- Поволоцкая К. Л., Седенко Д. М., 1955. Метод совместного определения активности аскорбиноксидазы, полифенолоксидазы и пероксидазы. Биохимия 20 (1) : 88—93.
- Сорокина О. Н., Анিকেева И. Д., Иофа Э. Л., 1964. Защитное действие метаболитов радиостойчивых растений. Радиобиология 4 (2) : 279—283.
- Школьник М. Я., 1969. Микроэлементы и нуклеиновые кислоты. Усп. совр. биол. 67 (1) : 3—23.
- Bowen H., Thick J., 1960. Factors from seeds extracts that modify radiosensitivity. Radiation Res. 13 (2) : 234—241.
- Hollaender A., 1957. Advances in Radiobiology. Edinburgh.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
7/IX 1970

JUHAN KALAM, MEIDA MAYER, LILIAN ISSAKO, TOIVO ORAV

FÜSIOLOOGILISE KIIRGUSKAHJUSTUSE KUJUNEMISEST KIIRITATUD JA
BaCl₂-LAHUSE NING SINEPISEEMNE-EKSTRAKTIGA TÖÖDELDUD ODRA-,
PÕLDOA- JA MAISISEEMNETEL

Resümee

Odra-, põldoa- ja maisiseemneid kiiritati ⁶⁰Co gammakiirtega, kasutades nelja kiirgusdoosi (suurim kiirgusdoos valiti veidi väiksem kui DL₁₀₀). Kiiritatud seemneid töödeldi BaCl₂-lahuse ja sinepiseemne-ekstraktiga. Laboratoorses katsetes määrati idanemise dünaamika, tõusmete protsent, tõusmete keskmine kõrgus, 100 tõusme kaal, a- ja b-klorofüllü sisaldus ning askorbiinoksüdaasi aktiivsus. Selgus, et kiiritusjärgne töötlemine BaCl₂-lahuse ja sinepiseemne-ekstraktiga mõjutab tunduvalt kiirguskahjustuse kujunemist. Kiirgusdoosi suurenemisel suureneb odra-, põldoa- ja maisitõusmetes askorbiinoksüdaasi aktiivsus.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetuse saabunud
7. IX 1970

JUHAN KALAM, MEIDA MAYER, LILIAN ISSAKO, TOIVO ORAV

**THE INFLUENCE OF THE POST-IRRADIATIONAL TREATMENT OF BARLEY,
BROAD BEAN AND MAIZE SEEDS WITH SOLUTION OF $BaCl_2$ AND INFUSION
OF MUSTARD SEEDS UPON THE PHYSIOLOGICAL EFFECT
OF GAMMA-IRRADIATION**

Summary

Barley, broad bean and maize seeds were exposed to four doses of gamma-rays from a ^{60}Co source (the greatest dose is a little smaller than DL_{100} of present species) and treated with a $BaCl_2$ solution and water-infusion of mustard seeds. The influence of the post-irradiational treatment was determined by the results of laboratory tests, taking into consideration the germinating power and dynamics, the seedling height, weight of 100 seedlings, content of chlorophyll a and b, and ascorbicoxidase activity. From the results it was concluded that a post-irradiational treatment with the $BaCl_2$ solution and infusion of mustard seeds modifies the radiation-induced damage. There exists a correlation between the doses of gamma-rays and ascorbicoxidase activity in barley, broad bean and maize seedlings.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
Sept. 7, 1970